

[11] International Publication No.: WO98/39438
[43] International Publication Date: September 11, 1998
[21] International Application No.: PCT/JP98/00953
[22] International Filing Date: March 9, 1998
[30] Priority Data: Japanese Patent Application No.
9-53578
Priority Date: March 7, 1997
Country: Japan
[71] Applicant (for all designated States except US):
MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.,
Shinjuku-ku, Tokyo 160-8515 (JP)
[72] Inventors; and
[75] Inventors/Applicants (for us only): S. FURUSAKO
[JP/JP] et al.
c/o Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.,
Shinjuku-ku, Tokyo 160-8515 (JP)
[54] Title of the Invention:
ANTISENSE COMPOUNDS TO CD14

* * * * *



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C12N 15/12, A61K 31/70</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/39438</p> <p>(43) 国際公開日 1998年9月11日(11.09.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/00953</p> <p>(22) 国際出願日 1998年3月9日(09.03.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/53578 1997年3月7日(07.03.97) JP</p> <p>(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 持田製薬株式会社 (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒160-8515 東京都新宿区四谷1丁目7番地 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 古迫正司(FURUSAKO, Shoji)[JP/JP] 堀澤義史(HORISAWA, Yoshifumi)[JP/JP] 楠山 健(KUSUYAMA, Takeshi)[JP/JP] 〒160-8515 東京都新宿区四谷1丁目7番地 持田製薬株式会社内 Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁護士 渡辺望悠, 外(WATANABE, Mochitoshi et al.) 〒101-0032 東京都千代田区岩本町3丁目2番2号 千代田岩本ビル4階 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 CA, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: ANTISENSE COMPOUNDS TO CD14</p> <p>(54)発明の名称 CD14に対するアンチセンス化合物</p> <p>(57) Abstract Oligonucleotides and derivatives thereof containing sequences which are hybridizable with, or complementary to a part of a gene encoding human CD14, and medicinal compositions containing as the active ingredient these oligonucleotides or derivatives thereof. These medicinal compositions are useful in treating diseases such as systemic inflammatory response syndrome.</p>		

(57) 要約

ヒトCD14をコードする遺伝子の一部とハイブリダイズする、または相補的な配列を含むオリゴヌクレオチド及び誘導体に関し、さらに、該オリゴヌクレオチドまたはその誘導体を有効成分とする医薬組成物に関し、この医薬組成物を用いる全身性炎症反応症候群等の疾患の治療に有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を特定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	RU	ロシア
AM	アルメニア	FR	フランス	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
AT	オーストリア	GB	イギリス	MC	モナコ	TD	チュニジア
AZ	アゼルバイジャン	GG	ガブナ	MD	モルドバ	TM	トルクメニスタン
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GM	ギニア	MG	マダガスカル	TR	トルコ
BB	バハマ	MN	モンゴル	MK	マケドニア	TT	トリニダード・トバゴ
BE	ベルギー	GR	ギリシャ			UA	ウクライナ
BF	ブルキナファソ	GU	グアム	ML	マリ	UG	ウガンダ
BG	ブルガリア	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	US	アメリカ合衆国
BJ	ベナン	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	UY	ウルグアイ
BY	ベラルーシ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ベトナム
CA	カナダ	IS	アイスランド	NE	ニジェール	ZW	ジンバブエ
CC	中央アジア共和国	IT	イタリア	NL	オランダ		
CF	中央アフリカ共和国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CH	スイス	KE	ケニア	PT	ポルトガル		
CI	コートジボワール	KG	キルギス	RO	ルーマニア		
CC	カメルーン	KR	韓国	RS	セルビア		
CU	キューバ	KZ	カザフスタン	SE	スウェーデン		
CC	中国	LC	セント・ルシア	SG	シンガポール		
CN	中国	LI	リベリア	SK	スロバキア		
CC	中国	LR	ラトヴィア	SL	シエラレオネ		
CZ	チェコ						
DE	ドイツ						
DK	デンマーク						
EE	エストニア						

明 細 書

CD 14 に対するアンチセンス化合物

技術分野

本発明は、ヒト CD 14 をコードする遺伝子の一部と相補的な配列を含むオリゴヌクレオチドに関する。さらに、該オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容しうる担体を含む医薬組成物に関する。

背景技術

細菌感染に伴い発症する敗血症は、米国では 50 万人がかかり 17 万 5 千人が死亡する致死性の高い疾患でありまた有効な治療法の確立していない疾患である (Science 誌、264 巻、365 頁、1994 年)。そしてその原因は、細菌からのリポポリサッカライド (lipopolysaccharide、以下 LPS と呼ぶ、LPS はエンドトキシンとほぼ同義である。) による直接作用であると考えられてきた。1985 年に Beutler 等が抗 TNF 抗体を投与したマウスは致死量のエンドトキシンに耐性を示すことを報告し (Science 誌、229 巻、869 頁、1995 年)、一方 Tracy 等は組換え TNF α を投与した動物にエンドトキシン類似のショックと臓器障害が発生すること (Science 誌、234 巻、470 頁、1996 年) を明らかにし、敗血症性ショックが LPS による直接作用ではなく、LPS の刺激により活性化したマクロファージの過剰なサイトカイン産生、すなわち高サイトカイン血症に因ることが判明した。このことが契機となり、LPS の刺激によって過剰に産生される

TNF α を標的とした治療法が試みられた。しかしながら、1990年代前半に行われたTNF α を標的とした臨床試験は28日後の生存率の改善などの指標で良好な結果が得られず失望した結果に終わっている（Nature Medicine、3巻、1193頁、1997年）。

現在、細菌感染を防御する目的では抗生物質が用いられているが、一方でこれらの抗生物質により菌体が破壊され多量のLPSが血中に放出されることも報告されている（Scand. J. Infect. Dis.、101巻、3頁、1996年）。このことは、抗生剤の使用がかえって敗血症性ショックまたはエンドトキシンショックを引き起こす原因になりかねないことを意味している。したがってショックを予防するには抗生物質の投与と共にLPSの刺激を遮断することが重要である。

CD14は、骨髓細胞が分化成熟するに伴い発現する分子量55kdのホスファチジルイノシトール結合型糖蛋白質であり、ヒト末梢血単核球の表面抗原としてTodd等により報告された（NewYork, Springer-Verlag, 424-433頁, 1984年）。現在では、CD14は、マクロファージ、単球、クッパー細胞および好中球膜上に存在することが判っている。

ヒトCD14のDNA配列はGoyerl等により1988年に報告され（Nucleic Acid Research、16巻、9号、4173頁、1988年）またマウスCD14DNA配列は、山本等により1988年に報告された（Somat. Cell Mol. Genet.、14巻、427頁、1988年）。CD14遺伝子は、第5番染色体のIL-3やGM-CSF、G-CSFなどの造血組織の分化増殖因子群が存在する遺伝子クラスターの中に存在し造血組織の分化成熟に関与することが示唆されていたが、その機能の詳細は不明であった。

1990年、Wright等によりCD14がグラム陰性桿菌内毒素のLPSの受容体であることが報告され（Wright等、サイエンス249巻1431頁1990年）、さらに最近の研究でCD14はLPSばかりでなくプロテオグリカンとも結合することが明らかにされた（Gupta等、J. Biol. Chem. 271巻38号23310頁1996年）。またグラム陰性細菌およびグラム陽性細菌の菌体成分がCD14を介して細胞を活性化することも報告されている（Jerome等、Immunity1巻509頁1994年）。すなわち、生体が細菌感染を受けた場合には、CD14が菌体成分と結合することによって、CD14を発現しているマクロファージや単球が活性化され、種々の炎症性因子（炎症性サイトカイン、例えばTNF α 、IL-1、IL-6、IL-8、PAI-2、MCP-1など、やアラキドン代謝物、PAFおよび一酸化窒素など）が放出、誘導されることにより、感染初期には細菌感染防御に寄与していると考えられている（Matthew等、J. Biol. Chem. 60巻728頁1996年）。一方で、敗血症のような病的状態では、細菌からの大量のLPSによるマクロファージの活性化が、血中への大量のTNF α 放出につながり、ショックが惹起されるとも考えられている（Fearn. S等、J. Exp. Med., 181巻、857頁、1995年）。

現在、CD14を介した、LPSによるサイトカイン産生機構については、以下のように考えられている。すなわち、菌体由来のLPS凝集物が血中でLPS結合蛋白質（LBP）と複合体を形成する事により単体LPSとして効率的にマクロファージ上のCD14分子と1対1で結合できるようになる。細胞表面上で結合したLPSはセラミドと類似のまだ未同定の経路で信号が細胞内に伝えられ、細胞内で転写因子であるNF κ Bが活性化し、TNF α を含む種々のサイ

トカインの産生が誘導される (Ulevith 等 Annual Review of Immunology、13、437, 1995)。これらのことは、細菌感染では宿主の一次応答が単球／マクロファージ上の CD 14 が LPS もしくはグラム陽性菌菌体成分に応答する事から反応が開始されることを意味している。

ところで、CD 14 分子には膜結合型と可溶型の 2 種の分子が存在する。可溶型 CD 14 の生成は膜結合型 CD 14 がプロテアーゼにより切断され可溶型となると考えられている (Philip 等、Eur. J. Immunol. 25 巻 604 頁 1995 年)。

そして、可溶型分子は、血中の LPS 分子と結合しこれを HDL に輸送することにより LPS のクリアランスに役立っているとの報告がある (Wurfel 等、J. Exp. Med. 186 巻 1743 頁 1995 年)。一方、膜結合型分子は LPS と結合しシグナルを細胞内に伝達させ炎症性サイトカインを誘導すると考えられている。即ち、CD 14 には LPS を除去する作用と炎症性因子を誘導する作用との相反する機能が存在すると考えられている。

特表平 5-501399 号公報は抗 CD 14 抗体を用いた敗血症の治療方法を開示している。抗 CD 14 抗体は CD 14 と LPS の結合を阻害し、CD 14 を介するシグナルを遮断することを可能にし、炎症性サイトカインの発現を抑制し、その結果敗血症を治療するものである。また WO93/19772、WO96/2057 には、可溶型の CD 14 を使用した敗血症の治療が開示されている。

しかし、敗血症性ショックの死亡率の高さ、患者数を考えると、より効果の高い医薬品を提供することが望まれている。

発明の開示

本発明者等は、敗血症性ショックに対してより効果の高い医薬組成物を提供すべく研究を重ねてきた。そして、敗血症性ショックの発症には、LPS刺激によって肝臓のクッパー細胞から産生される炎症性サイトカインが重要な役割を果たしていると予見し、LPSの除去に関与している可溶性CD14や、それぞれの部位で細菌感染防御に寄与している肺胞マクロファージや腹腔マクロファージ、その他のマクロファージ上のCD14には影響を与えない方法で、クッパー細胞上のCD14とLPSの結合を特異的に遮断することが治療上有効であろうと考えた。そして肝臓に蓄積性のあるアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いれば、肝クッパー細胞上のCD14に高い選択性で作用すると考えた。

マウスの肝クッパー細胞は、平常時にはCD14を極めて弱く発現しているだけだが、LPSによって刺激されると、CD14を強く発現するようになることが知られている。一方、肝臓は、ショックにおいて最も影響を受けやすい臓器であり、肝機能の低下が、全身症状に大きな影響を与えることも知られている。本発明者等は、LPS刺激により発現が誘導される肝クッパー細胞のCD14を選択的に抑制し、主にクッパー細胞からの炎症性サイトカインの産生を抑制するという新しい観点に基づく、敗血症または敗血症性ショックに有効な治療薬を提供する。すなわち、本発明者らはCD14に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを、敗血症または敗血症性ショックに有効な医薬品として提供する。

CD14のアンチセンスオリゴヌクレオチドが、医薬品として利用可能な程度にCD14の発現を抑制し、敗血症の治療に応用できるかについては全く不明であったが、本発明者らは、鋭意研究を行った結果、CD14に対するアンチセン

スオリゴヌクレオチドが医薬品として使用可能であることを確認した。さらに、本発明者等は以下の方法によって、CD14をコードする約1.4 kbの遺伝子の中でもアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的として特に効果の高い領域を決定することに成功した。

すなわち、5' 非翻訳領域および翻訳開始領域については、ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現系を用いた翻訳阻害実験、組換えHeLa細胞によるCD14蛋白発現阻害活性およびヒトマクロファージ様培養細胞によるTNF α 産生阻害活性を組み合わせることにより活性領域を特定した。また、容易には活性領域を特定できない翻訳領域および3' 非翻訳領域については、標的RNAとアンチセンスオリゴヌクレオチドの結合を特異的に切断するRNaseHを用いるスクリーニングを導入することにより、活性領域を特定することに成功した。次にこれらの活性領域の効果と毒性を、培養細胞もしくは動物を使用した系で確認し本発明を完成させた。

すなわち、本発明はヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも1部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供する。このうちヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部と相補的な配列を含むオリゴヌクレオチドが好ましい。

さらに、ヒトCD14 mRNAの5' 非翻訳領域、翻訳開始領域、翻訳領域または3' 非翻訳領域のそれぞれまたはその少なくとも一部と相補的な配列を含むオリゴヌクレオチドを提供する。

さらに、配列番号1の塩基配列の

(1) 塩基位置23番のシトシンから62番のアデニンまでの40塩基の塩基

配列

(2) 塩基位置 93 番のグアニンから 131 番のシトシンまでの 39 塩基の塩基配列

(3) 塩基位置 117 番のグアニンから 145 番のウリジンまでの 29 塩基の塩基配列

(4) 塩基位置 1241 番のアデニンから 1280 番のグアニンまでの 40 塩基の塩基配列

(5) 塩基位置 1264 番のグアニンから 1285 番のシトシンまでの 22 塩基の塩基配列

(6) 塩基位置 1267 番のシトシンから 1320 番のアデニンまでの 54 塩基の塩基配列

(7) 塩基位置 1301 番のグアニンから 1350 番のアデニンまでの 50 塩基の塩基配列

(8) 塩基位置 184 番のシトシンから 203 番のアデニンまでの 20 塩基の塩基配列

(9) 塩基位置 324 番のアデニンから 343 番のシトシンまでの 20 塩基の塩基配列

(10) 塩基位置 394 番のウリジンから 413 番のグアニンまでの 20 塩基の塩基配列

(11) 塩基位置 444 番のシトシンから 489 番のシトシンまでの 46 塩基の塩基配列

(12) 塩基位置 534 番のグアニンから 553 番のウリジンまでの 20 塩基の

塩基配列

(13) 塩基位置 6 4 4 番のウリジンから 6 6 8 番のウリジンまでの 2 5 塩基の塩基配列

(14) 塩基位置 6 8 4 番のシトシンから 7 5 8 番のウリジンまでの 7 5 塩基の塩基配列

(15) 塩基位置 7 9 4 番のアデニンから 8 2 8 番のグアニンまでの 3 5 塩基の塩基配列

(16) 塩基位置 8 6 4 番のシトシンから 9 1 8 番のグアニンまでの塩基の 5 5 塩基配列

(17) 塩基位置 9 9 4 番のグアニンから 1 0 4 8 番のシトシンまでの 5 5 塩基の塩基配列

(18) 塩基位置 1 0 6 4 番のグアニンから 1 1 0 8 番のウリジンまでの 4 5 塩基の塩基配列、および

(19) 塩基位置 1 1 9 4 番のグアニンから 1 2 2 3 番のグアニンまでの 3 0 塩基の塩基配列塩基

から選ばれるいずれか 1 つの配列またはいずれか 1 つの配列の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、またはそれらと相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを提供する。

これらのうち、ヒト CD 1 4 の発現を抑制するオリゴヌクレオチドが好ましい。例えば、さらに RNaseH 切断実験でヒト CD 1 4 遺伝子との結合活性が高いオリゴヌクレオチドや翻訳阻害実験でヒト CD 1 4 の発現を 3 0 % 以上抑制するオリゴヌクレオチドが好ましい。

本発明のオリゴヌクレオチドの塩基数は、好ましくは10から50のいずれかであり、特に好ましくは15から30のいずれかである。

本発明はまた、ヌクレオチド間の結合基の少なくとも1つがイオウ原子を含むオリゴヌクレオチドも提供する。

さらに、本発明は配列番号10, 11, 12, 13, 16, 19; 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 42, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 63, 64, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 102, 103, 109, 123, 124, 125, 130, 135, 136, 137, 138, 144, 155, 156, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 170, 171, 172, 177, 178, 179, 180, 181, 190, 191, 192, 193, 194, 196, 197, 198, 199, 209, 210, 215, 216, 220, 221, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を含み、30塩基以下の塩基からなるオリゴヌクレオチドを提供する。

また、本発明はCD14をコードする遺伝子にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを有効成分とする医薬組成物を提供する。当該医薬組成物は、CD14をコードする遺伝子にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドに加え、必要に応

じて、薬学的に許容しうる担体を含むものである。当該医薬組成物は、好ましくは敗血症または敗血症性ショックもしくはCD14を介して誘導される炎症性因子によって引き起こされる疾患の予防／治療薬である。

図面の簡単な説明

図1はヒトCD14をコードする遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドのCD14翻訳阻害活性を示す図である。

図2はヒトCD14をコードする遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの塩基長による効果を示す図である。

図3はヒトCD14に対するmRNAの5'非翻訳領域およびAUG近傍領域に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドのヒトTNF α 産生抑制活性を示す図である。

図4はヒトCD14に対するmRNAの3'非翻訳領域に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドのヒトTNF α の産生抑制活性を示す図である。

図5はマウスCD14に対するmRNAの5'非翻訳領域およびAUG近傍領域に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドのマウスTNF α 産生抑制活性を示す図である。

図6はエンドトキシンショックモデルにおけるオリゴヌクレオチドSM0105Aの効果を示す図である。

図7はエンドトキシンショックモデルにおけるオリゴヌクレオチドSM0105Aの肝機能に対する効果を示す図である。

図8はヒトCD14をコードする遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオ

チドのヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現阻害活性を示す図である。

図9はヒトCD14に対するmRNAの翻訳領域に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドのヒトTNF α 産生抑制活性を示す図である。

図10は翻訳開始領域近傍に対するヒトアンチセンスオリゴヌクレオチドとマウスアンチセンスオリゴヌクレオチドの塩基配列を比較した図である。

図11はコンセンサスオリゴヌクレオチドのヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現阻害活性を示す図である。

図12はコンセンサスオリゴヌクレオチドのマウスTNF α 産生抑制活性を示す図である。

発明の概要

以下に本発明を詳しく説明する。

本発明のオリゴヌクレオチドはヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズする。このうちヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部と相補的な配列を含むオリゴヌクレオチドが好ましい。

本発明の説明において、「オリゴヌクレオチド」とは塩基、リン酸、糖からなるヌクレオチドが複数結合したオリゴヌクレオチドとその誘導体の全てが含まれる。オリゴヌクレオチドの代表的なものがDNAとRNAである。オリゴヌクレオチド誘導体には、その立体構造や機能がオリゴヌクレオチドと類似するものはすべてが含まれる。例えば、オリゴヌクレオチドの3'末端もしくは5'末端に他の物質が結合したものや、オリゴヌクレオチドの塩基、糖、リン酸の少なくともいずれか1つにおいて、置換や修飾が生じた物質、天然には存在しないよ

うな、塩基、糖、リン酸を有するものや糖ーリン酸骨格以外の骨格（バックボーン）を有するものでなどが挙げられる。

本発明の説明において「遺伝子」とは、染色体DNAまたはその転写物（mRNAおよびその前駆体）を意味し、「CD14をコードする遺伝子」とはCD14のアミノ酸配列を規定している構造遺伝子、構造遺伝子の途中に存在する介在配列（イントロン）、およびCD14の発現に関与する、構造遺伝子上流の塩基配列（プロモーターやオペレーターなど）や構造遺伝子下流の塩基配列を意味する。ヒトCD14をコードする遺伝子の代表的な配列を配列表の配列番号1および2に示す。

本発明の説明において「ハイブリダイズする」とはDNAもしくはRNAに対して塩基間で特異的結合を形成することをいう。ハイブリダイズの強さとしては0.15Mリン酸緩衝液で、45℃以上のT_m値を持つものであればよく、55℃以上のT_m値を持つものがより好ましい。特異的結合は、一般的には相補的結合により形成されるがここでは、その結合様式は問わない。つまり、本発明のオリゴヌクレオチドはヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部に特異的に結合するものであれば必ずしも標的配列に完全に相補的配列を持つ必要はなく、またイノシンや5-ニトロインドールに代表されるユニバーサルベースを含んでいてもよいし、その一部に相補的配列でない塩基もしくは配列を含んでいてもよい。また、Watson-Crick型、もしくはHoogsteen型またはその両方の結合様式で、二重鎖もしくは三重鎖を形成するような場合も、本発明の「ハイブリダイズする」に包含される。また、「相補的な配列」とは、DNAやRNAの塩基配列に対して塩基特異的な相補的塩基対を形成するような

塩基対をいう。一般的にはC（シトシン）とG（グアニン）の間、T（チミン）とA（アデニン）の間、およびU（ウラシル）とA（アデニン）との間で相補的塩基対が形成される。

本発明のオリゴヌクレオチドは、好ましくはヒトCD14 mRNAまたはmRNA前駆体の少なくとも一部分にハイブリダイズするものである。

本発明のオリゴヌクレオチドは、その長さは特に限定されない。一般的には、10塩基以上の塩基を含む塩基配列であれば、特異的配列と考えられている。したがって、本発明のオリゴヌクレオチドは10塩基以上からなる塩基配列を含むものであれば、ヒトCD14をコードする遺伝子に特異的にハイブリダイズすることが期待される。

一方、オリゴヌクレオチドを細胞内に取り込ませるには、その長さが余り長すぎても不適當である。本発明のオリゴヌクレオチドはいかなる長さのものでもよいが、本発明のオリゴヌクレオチドを細胞内に取り込ませ、ヒトCD14の発現を抑制することを考慮すると、ヒトCD14をコードする遺伝子にハイブリダイズし、10塩基以上50塩基以下、好ましくは15塩基以上30塩基以下の塩基数からなるものが好ましい。すなわち、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、配列番号1または2の配列のn番からn+10番、n番からn+11番、n番からn+12番、n番からn+13番、n番からn+14番、n番からn+15番、n番からn+16番、n番からn+17番、n番からn+18番、n番からn+19番、n番からn+20番、n番からn+21番、n番からn+22番、n番からn+23番、・・・n番からn+50番（n=1～1341）番までのそれぞれの配列にハイブリダイズする、または相補的である

オリゴヌクレオチドである。

本発明のオリゴヌクレオチドは、ヒトCD14をコードする遺伝子、好ましくはヒトCD14をコードするmRNAもしくはその前駆体のいかなる部位を標的とするものであってもよい。すなわち、本発明のオリゴヌクレオチドが結合する部位は特には限定されない。しかしながら、当該オリゴヌクレオチドはmRNAもしくはmRNA前駆体の翻訳開始領域、翻訳領域、5'非翻訳領域、3'非翻訳領域、リボソーム結合領域、キャッピング領域、スプライシング領域、ヘアピン構造を形成するループ部分のいずれかに結合することが好ましい。中でも、ヒトCD14 mRNAの翻訳開始領域は、その効果の面で本発明のオリゴヌクレオチドの標的としてふさわしく、又、本発明のオリゴヌクレオチドを核内に蓄積させることを想定すると翻訳領域が好ましい。

具体的には、本発明のオリゴヌクレオチドは、配列番号1で示されるヒトCD14に対するmRNA中の、下記(1)から(19)より選ばれる、いずれかの配列からなる領域を標的として設計することが好ましい。

(1) 塩基位置23番のシトシンから62番のアデニンまでの40塩基の塩基配列

(2) 塩基位置93番のグアニンから131番のシトシンまでの39塩基の塩基配列

(3) 塩基位置117番のグアニンから145番のウリジンまでの29塩基の塩基配列

(4) 塩基位置1241番のアデニンから1280番のグアニンまでの40塩基の塩基配列

(5) 塩基位置 1 2 6 4 番のグアニンから 1 2 8 5 番のシトシンまでの 2 2 塩基の塩基配列

(6) 塩基位置 1 2 6 7 番のシトシンから 1 3 2 0 番のアデニンまでの 5 4 塩基の塩基配列

(7) 塩基位置 1 3 0 1 番のグアニンから 1 3 5 0 番のアデニンまでの 5 0 塩基の塩基配列

(8) 塩基位置 1 8 4 番のシトシンから 2 0 3 番のアデニンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(9) 塩基位置 3 2 4 番のアデニンから 3 4 3 番のシトシンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(10) 塩基位置 3 9 4 番のウリジンから 4 1 3 番のグアニンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(11) 塩基位置 4 4 4 番のシトシンから 4 8 9 番のシトシンまでの 4 6 塩基の塩基配列

(12) 塩基位置 5 3 4 番のグアニンから 5 5 3 番のウリジンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(13) 塩基位置 6 4 4 番のウリジンから 6 6 8 番のウリジンまでの 2 5 塩基の塩基配列

(14) 塩基位置 6 8 4 番のシトシンから 7 5 8 番のウリジンまでの 7 5 塩基の塩基配列

(15) 塩基位置 7 9 4 番のアデニンから 8 2 8 番のグアニンまでの 3 5 塩基の塩基配列

(16) 塩基位置 8 6 4 番のシトシンから 9 1 8 番のまでのグアニン塩基の 5 5 塩基配列

(17) 塩基位置 9 9 4 番のグアニンから 1 0 4 8 番のシトシンまでの 5 5 塩基の塩基配列

(18) 塩基位置 1 0 6 4 番のグアニンから 1 1 0 8 番のウリジンまでの 4 5 塩基の塩基配列、および

(19) 塩基位置 1 1 9 4 番のグアニンから 1 2 2 3 番のグアニンまでの 3 0 塩基の塩基配列塩基

上記 (1) ないし (19) の塩基配列のなかでも、(1)、(2)、(4)、(5)、(7)、(8)、(11)、(16)、(19) の塩基配列からなる領域は、本発明のオリゴヌクレオチドの標的として特に有効であると考えられる。

したがって、本発明のオリゴヌクレオチドの好ましい例は、上記 (1) ないし (19) より選ばれるいずれかの配列とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、または上記 (1) ないし (19) より選ばれるいずれかの配列の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであり、好ましくは (1)、(2)、(4)、(5)、(7)、(8)、(11)、(16)、(19) の塩基配列より選ばれるいずれかの配列とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、(1)、(2)、(4)、(5)、(7)、(8)、(11)、(16)、(19) より選ばれるいずれかの配列の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドである。より好ましくは、上記 (1) ないし (19) より選ばれるいずれかの配列と相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチド、または上

記(1)ないし(19)より選ばれるいずれかの配列の少なくとも一部と相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドであり、好ましくは(1), (2), (4), (5), (7), (8), (11), (16), (19)の塩基配列より選ばれるいずれかの配列と相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチド、上記(1), (2), (4), (5), (7), (8), (11), (16), (19)より選ばれるいずれかの配列の少なくとも一部と相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドである。これらのオリゴヌクレオチドは10以上50以下の塩基からなるオリゴヌクレオチドであることが好ましい。例えば本発明のオリゴヌクレオチドの好ましい例は上記(1)ないし(19)のいずれかの塩基配列中の10以上の一続きの塩基配列にハイブリダイズする、または相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドである。

なお、上記配列のうち、(1)から(3)は、ヒトCD14に対するmRNAの5'非翻訳領域から翻訳開始部位にかけての領域内に位置し、(8)から(19)は翻訳領域内に、(4)から(7)は3'非翻訳領域内に位置する配列である。

本発明のオリゴヌクレオチドは、ヒトCD14の発現を抑制する活性を有することが好ましい。本発明者らは、実施例13で示したようにRNaseH切断実験が、CD14の発現を抑制するうえでより効果的なオリゴヌクレオチドを選択するための指標として有効であることを見出した。したがって、本発明のオリゴヌクレオチドは、ヒトCD14のmRNAの少なくとも一部とハイブリダイズする、または相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドのなかで、RNaseH切断実験でスコア1以上、好ましくは2以上であるものが好ましい。また、ヒトCD14ル

シフェラーゼ融合蛋白質発現阻害実験で、ヒトCD14の発現を20%以上、好ましくは40%以上抑制しうるオリゴヌクレオチド、TNF α 産生阻止実験で、TNF α の産生を阻止しうるオリゴヌクレオチド、in vitro translation反応によるCD14翻訳阻害実験でCD14の翻訳を30%以上阻害しうるオリゴヌクレオチドが好ましい。

さらに、本発明は配列番号10, 11, 12, 13, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 42, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 63, 64, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 81, 83, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 102, 103, 109, 123, 124, 125, 130, 135, 136, 137, 138, 144, 155, 156, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 170, 171, 172, 177, 178, 179, 180, 181, 190, 191, 192, 193, 194, 196, 197, 198, 199, 209, 210, 215, 216, 220, 221, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを提供する。なお、上記配列表にはP=S体、P=O体のオリゴヌクレオチドが混在するが、修飾の有無、誘導体の種類にかかわらず、ここでは上記配列番号に示された塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを意味す

る。当該オリゴヌクレオチドは、上記塩基配列を有し好ましくは塩基数30以下のオリゴヌクレオチドである。

アンチセンス技術の進歩とともに、オリゴヌクレオチドの医薬品としての効果を高めることを目的として様々な誘導体が見いだされてきた。現在、目的のDNAやmRNAとの結合力、組織選択性、細胞透過性、ヌクレアーゼ耐性、細胞内安定性の高い、様々なオリゴヌクレオチド誘導体を得られている。前述のように、本発明のオリゴヌクレオチドには、天然には存在しないような、塩基、糖、リン酸、バックボーン構造からなるものも含めて、あらゆる種類の誘導体が含まれる。本発明に含まれる誘導体の例としては、バックボーン構造として、その全部または一部にフォスフォジエステル (phosphodiester) 結合、フォスフォロチオエート (phosphorothioate) 結合、メチルフォスフォネート (methylphosphonate) 結合、フォスフォロアミデート (phosphoroamidate) 結合、フォスフォロジチオエート (phosphorodithioate) 結合、モルホリノ基を有する誘導体等 (東海林洋子等、癌と化学療法、20巻、1899-1907頁、1993年) が挙げられる。

また、デオキシリボヌクレオチドグアニジン (DNG) (Robert P等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、92巻、6097頁、1995年) や、糖の2'位が、他の原子あるいは置換基に置換されたものや α -リホース等、糖部分を修飾したものも誘導体の例として挙げられる (Bertrand J R. Biochem. Biophys. Res. Commun. 164巻、311頁、1989年)。

さらに、糖部分が他の物質に置換されたもの、一部の塩基がイノシンやユ

ニバーサルベース（A、T、C、Gのいずれにでも結合する塩基）に置換された物、オリゴヌクレオチドの5'末端もしくは3'末端もしくは内部にコレステロールやアクリジン、ポリーL-リジン、ソラレン(psoralen)、長鎖アルキル等が結合したもの等のオリゴヌクレオチド誘導体も本発明に含まれる（G. Degols等、Nucleic Acid Research, 17巻、9341頁、1989年 A. McConnaghie等、J. Med. Chem. 38巻、3488頁、1993年 G. Godard等 Eur. J. Biochem. 232巻、404頁。1995年）。

本発明では、上記誘導体の好ましい一例としてフォスフォロチオエート結合をバックボーン構造として有する誘導体、すなわち、ヌクレオチド間の結合基の少なくとも1つがイオウ原子を含むオリゴヌクレオチドを提供する。

このようなオリゴヌクレオチドの好適な例は、配列番号10, 11, 12, 13, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 42, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248より選ばれるいずれかのオリゴヌクレオチド（すなわち、上記配列番号より選ばれるいずれかの配列を有し、P=S体であるオリゴヌクレオチド）である。

先にも述べたように、本発明のオリゴヌクレオチドは、上述の標的配列に対してハイブリダイズするものであれば、標的となる領域の一部の塩基配列と完全に

相補的な配列を含んでいる必要はない。逆に、医薬品開発に動物実験が欠かせないことを考慮すると、ヒトCD14をコードする遺伝子にハイブリダイズし、かつ、モデル動物のCD14をコードする遺伝子にもハイブリダイズするようなオリゴヌクレオチドが有用になる。このようなオリゴヌクレオチドは、ヒトとモデル動物のCD14をコードする遺伝子の塩基配列のうち、相同性の高い領域を標的として作成することが可能である。例えば、マウスのCD14をコードする遺伝子の塩基配列を配列表の配列番号3および4に示したが、ヒトとマウスとで相同性の高い部分を調べ、ヒトとマウスとで一致する部分については、それに相補的な塩基配列を、一致しない部分については、イノシンや5-ニトロインドールに代表されるユニバーサルベースを使用することにより、マウスCD14をコードする遺伝子にも、ヒトCD14をコードする遺伝子にもハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを作成することができる。同様の方法で、ヒトおよびヒト以外の任意の2種以上の動物のCD14をコードする遺伝子のいずれにもハイブリダイズするようなオリゴヌクレオチドを作成することができる。もちろん、必要に応じて、バックボーンにフォスフォロチオエート結合を導入しても良い。このようなオリゴヌクレオチドのうち、CD14の発現を抑制する活性が期待できる好ましいものは、下記の(1)ないし(9)の塩基配列からなる領域を標的として設計することができる。ただし、オリゴヌクレオチドの、ヒトおよびヒト以外の動物のCD14に対する相補性を高める目的で、これらの領域よりも数塩基下流、数塩基上流までを含めて標的としてもよい。このようなアンチセンスオリゴヌクレオチドの具体例としては、下記の(1)ないし(9)より選ばれるいずれかの塩基配列に相補的な塩基配列において、その中の少なくとも1つ以上の塩

基がユニバーサルベースに置換された塩基配列を有するオリゴヌクレオチドが挙げられる。もしくは下記(1)ないし(9)より選ばれるいずれかの塩基配列中の、10以上の一続きの塩基配列からなる任意の部分に相補的な塩基配列において、その中の1つ以上の塩基がユニバーサルベースに置換された塩基配列を有するオリゴヌクレオチドが挙げられる。

(1) 配列番号1の103番のアデニンから131番のシトシンまでの29塩基

(2) 配列番号1の184番のシトシンから203番のアデニンまでの20塩基

(3) 配列番号1の324番のアデニンから343番のシトシンまでの20塩基

(4) 配列番号1の444番のシトシンから489番のシトシンまでの46塩基

(5) 配列番号1の684番のシトシンから758番のウリジンまでの75塩基

(6) 配列番号1の794番のアデニンから828番のグアニンまでの35塩基

(7) 配列番号1の864番のシトシンから908番のアデニンまでの45塩基

(8) 配列番号1の994番のグアニンから1046番のグアニンまでの53塩基

(9) 配列番号1の1064番のグアニンから1108番のウリジンまでの4

5 塩基

より具体的には、下記の(10)から(18)より選ばれる塩基配列の全部、もしくはその中の10以上の一続きの塩基からなる任意の部分配列を有するオリゴヌクレオチドである。これらの配列はヒト、マウス、サルのCD14 mRNAのいずれにもハイブリダイズするように設計されたものである。

(10)CAA CAA GCX XXX XXC XCG CTC CAT GGT CGX TAX XT

(11) TTC XTC GTC XAG CTC XCA XGG

(12)ACT GCC XCX GXT CXG CXT CXG XXT CXA CXG GCX TTA GAA

(13)AGX TXX TCX AGX GTC AGT TCC TXG AGG CXG GAX XXC XCX AGX ACA CGC
AXG GC

(14) GCX GXX ATC AGT CCX CXX TCG CCC AXT XCA GGA TTG TCA GAC AGG TCT
AXG XTG GXX AGG GCX GGG AAX XCG CG

(15)GCA CAC GCC XXT GGG CGT CTC CAT XCC XGX GTT XCG CAG CGC TA

(16)TXC XGX XXC XCG CAG XGA XTT GTG XCT XAG GTC TAG XCX XTG

(17)CTG TTG XAX CTG AGA TCX AGC ACX CTG AGC TTG GCX GGC AGX CCT TTA GG

(18)CCA XXA AGG GAT TXC CXT XXA GTG XCA GGT TXX CCA CXT XGG GCA GCT C

(ただし上記(10)から(18)においてXは、ユニバーサル塩基を示す)

より具体的には配列番号242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256 および257 に示した塩基配列を有するオリゴヌクレオチドが挙げられる。

以下に、本発明のオリゴヌクレオチドの製造方法を説明する。

オリゴヌクレオチドやその誘導体は、公知の方法で製造することができる（例えば、S. Agrawal等 Protocol for oligonucleotides and Analogs. Method in Molecular Biology series 20巻、Humana Press, S. Agrawal等 Antisense Research and Development 4巻、185頁、1994年）。

天然のDNAやRNAであれば、化学合成機を使用して合成したり、ヒトCD14をコードする遺伝子を鋳型としてPCR法により本発明のオリゴヌクレオチドを得ることができる。また、メチルフォスフォネート型やフォスフォロチオエート型等、誘導体の中には、化学合成機（たとえばパーキンエルマージャパン（株）製、394型）を使用して合成できるものもある。この場合には、化学合成機に添付されたマニュアルに従って操作を行い、得られた合成産物を逆相クロマトグラフィー等を用いたHPLC法により精製することによっても、目的のオリゴヌクレオチド誘導体を得ることができる。

ヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドは前述の方法で合成したオリゴヌクレオチドをヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現系を用いた翻訳阻害実験でその効果を確認することができる。またヒトCD14を介して誘導される炎症性因子の発現を抑制する効果を細胞評価系を用いて確認することができる。この細胞評価系は、THP-1細胞をPMAおよびビタミンD3で処理することによりマクロファージ様細胞に分化誘導し、LPSの刺激によりTNF α を産生誘導し、各種のオリゴヌクレオチド

を添加してTNF α 産生が阻害されるか否かを指標にオリゴヌクレオチドの有効性を評価する。本発明のオリゴヌクレオチドは、またヒトCD14を発現するような組み換え細胞を使用して、ヒトCD14の発現を阻止する活性を指標に評価、選択する。もしくは、RNaseH切断実験における結合活性値を指標として評価、選択する。

次に、本発明のオリゴヌクレオチドの利用方法について説明する。

本発明のオリゴヌクレオチドはヒトCD14とコードする遺伝子に結合することを特徴とするため、検体中のヒトCD14遺伝子の検出を目的とする診断用プローブとして使用できる。本発明のオリゴヌクレオチドを診断用のプローブとして使用する場合には、それらを、公知の方法に従い、ラジオアイソトープや、酵素、蛍光物質、発光物質等で標識する。次に、CD14の発現を調べたい患者の細胞からDNAもしくはmRNAを公知方法で調製し、これを被検物質として、標識プローブを加えて反応させた後、洗浄して未反応の標識プローブを除去する。被検物質中に、ヒトCD14DNAもしくはRNAが含まれていれば、標識プローブはそれらと結合する。結合形成の有無は、標識した酵素、蛍光物質、発光物質、あるいは放射性同位元素等による発光、蛍光、放射能等を指標として知ることができる。

したがって、本発明のオリゴヌクレオチドは診断用プローブとして、外界からの刺激に対する各組織や細胞のCD14の発現量の増減を検出したり、CD14を介して生じる炎症性因子によって引き起こされる疾患、具体的には全身性炎症反応症候群、敗血症およびショック、潰瘍性大腸炎、クローン病、自己免疫反応および疾患、アレルギー疾患、癌、移植片対宿主病、歯周病もしくは骨粗鬆症等

の診断に利用することができる。また、炎症の程度や治療方法、予後を決定するための診断にも使用することができる。

本発明のオリゴヌクレオチドを医薬用途に使用する場合には、医薬品として使用するのに適した純度のものを、必要に応じて、薬理的に許容されうる添加物とともに、人体への投与に適した剤型で使用する。その詳細は、本発明の医薬組成物の欄で説明する。

以下に、本発明の医薬組成物を説明する。本発明の医薬組成物は、上述のような本発明のオリゴヌクレオチドを有効成分とする。本発明の医薬組成物は、または、ヒトCD14をコードする遺伝子に結合し、ヒトCD14の発現を抑制し得るオリゴヌクレオチドを有効成分とする。当該医薬組成物は、医薬品として使用するのに適した純度のオリゴヌクレチドを直接適当な溶媒に溶解もしくは懸濁して使用してもよいし、リボソーム中に封入したり、適当なベクターに組み込んだ形にして使用してもよい。また、必要に応じて、本発明のオリゴヌクレオチドに薬学的に許容され得る担体を添加し、注射剤、錠剤、カプセル剤、点眼剤、クリーム剤、座剤、噴霧剤、パップ剤等適当な剤型にして使用してもよい。薬学的に許容しうる担体には、溶媒、基剤、安定化剤、防腐剤、溶解剤、賦形剤、緩衝剤等が含まれる。

すでに述べたようにCD14は、マクロファージ、単球、クッパー細胞および好中球膜上に存在するLPS受容体である。細菌が感染するとCD14を介してマクロファージや好中球が活性化され、炎症性因子を誘発すると考えられている。したがって、ヒトCD14の発現を抑制するオリゴヌクレオチドを有効成分とする本発明の医薬組成物は、CD14を介して生じる炎症性因子によって引

き起こされる疾患、具体的には全身性炎症反応症候群、敗血症もしくはエンドトキシン血症、敗血症性ショックもしくはエンドトキシンショック、潰瘍性大腸炎、クローン病、自己免疫反応および疾患、アレルギー疾患、癌、腹膜炎、移植片対宿主病、歯周病もしくは骨粗鬆症等の予防もしくは治療薬として使用することができる。本発明の医薬組成物は肝クッパー細胞上のCD14に、より選択的に作用すると考えられるので、特に、敗血症および敗血症性ショックまたは、それらに起因する全身症状や臓器不全の予防／治療薬として高い効果が期待できる。

上記の疾患のうち、全身性炎症反応症候群（SIRS）は、菌血症、外傷、熱傷、肺炎および手術侵襲が引き金となり生じる状態であり、重篤化すると多臓器傷害さらに多臓器不全に陥り死に至る。SIRSで感染が明らかなものが敗血症であり、その代表的なものがエンドトキシン血症である。但し、外傷、熱傷、手術侵襲でも外因性にLPSが進入する以外に腸内細菌叢から腸管粘膜の透過性が亢進して内因性LPSが進入する場合もある（Ravin A. 等、Fed. Proc. 21巻、65頁、1962年）。例えば感染が認められなくても外傷後のショックにより腸管膜動脈の血流量が減少し腸管の生理的バリアが破綻し、細菌性トランスロケーションが内因性LPSに起因するエンドトキシン血症を引き起こすことが報告されている（Surgery 110巻、154頁、1991年）。顕著に肝機能が低下している全ての肝炎、例えばアルコール性肝炎、劇症肝炎または肝硬変では、内因性のLPSが腸管から門脈に入り肝機能の低下に伴い肝臓のクッパー細胞に十分処理されないで大循環に入った場合、DICや多臓器不全が生じることが死の原因になることが報告されている（谷川

久一等、肝胆膵27巻、381頁、1993年)。熱傷では熱症部位で感染を合併し、血中LPSが上昇しTNFに代表される炎症性サイトカインが産生され病態を形成することが報告されている(遠藤重厚等、Burns、19巻、124頁、1993年)。腹膜炎は、グラム陰性菌が大部分を占めるが腸管内常在菌に由来することもある。移植片対宿主病は、骨髄移植においては最も高頻度に生じる疾患である。移植片対宿主病では、移植したリンパ球が宿主組織を攻撃しとくに消化管で顕著に現れ腸管からLPSが大循環に進入しエンドトキシン血症を生じることが報告されている(Moore KH. 等、Transplantation 44巻、249頁、1987年)。その他のエンドトキシン血症による重篤な疾患としては、成人性呼吸器窮迫症候群(ARDS)や、急性化膿性胆管炎、汎発性腹膜炎、術後腹腔内膿腫などの重症感染症などがある。

本発明のオリゴヌクレオチドは、上述のような剤型とした場合、患者の年齢や、性別、疾患の種類、程度に応じて、その投与方法、その投与量を設定して使用することができる。すなわち、CD14の発現を調節し、病態を改善するのに適した量を、経口投与または非経口投与する。例えば、連続的にあるいは1日あたり1回若しくは数回に分けて、0.001~2000mg/kgが投与される。静脈注射の場合は0.01~100mg/kgが好ましい。また、本発明のオリゴヌクレオチドは上記投与量においては十分に安全である。経口投与には舌下投与を含む。非経口投与は、吸入、経皮投与、点眼、腔内投与、関節内投与、直腸投与、動脈内投与、静脈内投与、局所投与、筋肉内投与、皮下投与、腹腔内投与等から適当な方法を選んで投与すればよい。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。これらは一例として示すものであり、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。また、以下の記載において用いる略号は、当該分野における慣用略号に基づくものである。なお、実施例中の諸操作は、主にMolecular Cloning, A Laboratory Manual 2nd ed. (Sambrook J. et al., Cold Spring Harbor Laboratory, 1989年)を参考にして行った。これらを引用して本明細書の内容とする。

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

実施例1 ヒトCD14遺伝子のクローニング

THP-1細胞を 7.1×10^5 cells/wellで2ウェル、6ウェルプレートに植え込み一昼夜37℃でインキュベーションした。終濃度0.1 μ Mになるように1 α ,25-DihydroxyvitaminD₃ (BIOMOLリーサーチ社製)を加えさらに一昼夜培養した。THP-1細胞を回収し1mlのISOGEN (TELTEST社製)を用いてプロトコールに従いRNAを抽出した。次にSuperScript Preamplification System (GIBCO社製)によりオリゴdTプライマーを用いて抽出したRNAを鋳型としcDNAライブラリーを作製した。

作製したcDNAライブラリー1.5 μ g、センスプライマー (5' ACGCGTCGACGAGTTCACAAGTGTAAGCCTG 3'; 配列番号5)、アンチセンスプライマー (5' ACATGCATGCTTAATAAAGGTGGGGCAAAGGG 3'; 配列番号6)を用いPfu DNA合成酵素 (Stratagene社製)により94℃で30秒、55℃で30秒、72℃で180秒のサイクルを30回繰り返しPCR反応を行った。増幅したDNA断片とpUC

118プラスミドをSalI制限酵素とSphI制限酵素によりそれぞれ処理し、1%アガロース電気泳動により精製した。次にpUC118切断断片とPCR増幅DNA断片を2対1の量比で混合しLigation kit (Takara社製)を用いてライゲーション反応を行った。次にこの反応液をJM109細胞にトランスフェクトし、アガープレートに播種し一晩37℃でインキュベーションした。生じたプラークを採取しPCRにより目的の組換え体 (pUCH14P-4 plasmid)であることを確認した。

実施例2 ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現プラスミドの構築

in vitro translationに用いるRNAを合成するために必要な発現ベクターを得るために、pUCH14P-4プラスミドのHindIIIおよびBamHI部位で切断した遺伝子断片を発現ベクター (pGEM1ucプラスミド) に導入しクローニングしpGEM1ucH14-9を得た。次にpGEM1ucH14-9プラスミドを鋳型とし、センスプライマー (5' CCCAAGCTTAAGTGTGAAGCCTGAA GCCGCCGG 3' ; 配列番号7)、アンチセンスプライマー (5' ATGGCGCCGGGCCTTTC TTTATGTTTTTGGCGTCTTCCAGTTGG' 3 ; 配列番号8) を用いてPCR反応を行った。

反応産物をエクノール沈殿しBbeI制限酵素およびHindIII制限酵素でそれぞれ消化した。あらかじめ両制限酵素で処理したpGEM1ucDNA断片とPCR増幅産物を常法に従いライゲーションしHB101細胞を用いてクローニングしpGEM1uc(ctg)H14-3を得た。

実施例3 オリゴヌクレオチドの合成

以下の実施例で使用するホスホジエステルオリゴヌクレオチドおよびホスホロ

チオエイトオリゴヌクレオチドは、O P Cカラムで精製した調製物を（株）サワデー・テクノロジーに合成委託し入手した。また、実施例 10, 11 で使用したホスホロチオエイトオリゴヌクレオチドはマイクロボンドスフェア C 8（300 オングストローム）で精製した調製物を日清紡に合成委託し入手した。それぞれヒト C D 14 に対するオリゴヌクレオチドおよびマウス C D 14 に対するオリゴヌクレオチドを表 1、2、3、5、6 に示した。なお、表 1、2、3、5、6 において P = S とは、ホスホジエステル結合において 1 原子の酸素（O）がイオウ原子（S）に置換していることを示し、P = O は置換を行っていないことを示す。

また、以下の実施例で用いたコントロールオリゴヌクレオチドには、~~配列を指定せず、4 種類のアミダイトを混合し、ランダムな DNA 合成を行って得た無秩序な配列のホスホジエステルオリゴヌクレオチドの混合物もしくはホスホロチオエイトオリゴヌクレオチドの混合物を用いた。~~

ヒトCD14をコードする遺伝子に対するオリゴヌクレオチド (その1)

表1の1

オリゴヌクレオチド	配 列	塩基長	修飾	配列番号
SH0013A	CGGCTTCCAGGCTTCACACT	20mer	P=S	9
SH0023A	CGGCACCCGGCGGCTTCCAG	20mer	P=S	10
SH0033A	TCCTACACAGCGGCACCCGG	20mer	P=S	11
SH0038A	TTCTTTCTACACAGCGGCA	20mer	P=S	12
SH0043A	TTAGCTTCTTCTACACAG	20mer	P=S	13
SH0048A	GTGCTTTAGCTTCTTCTCTA	20mer	P=S	14
SH0053A	TGGAAGTGCTTTAGCTTCTT	20mer	P=S	15
SH0063A	GGACAGGCTCTGGAAGTGCT	20mer	P=S	16
SH0073A	TCTGAGCTCCGGACAGGCTC	20mer	P=S	17
SH0083A	CTTCCGAACCTCTGAGCTCC	20mer	P=S	18
SH0093A	GTCGATAAGTCTTCCGAACC	20mer	P=S	19
SH0096A	ATGGTCGATAAGTCTTCCGA	20mer	P=S	20
SH0099A	TCCATGGTCGATAAGTCTTC	20mer	P=S	21
SH0102A	CGCTCCATGGTCGATAAGTC	20mer	P=S	22
SH0104A	CGCGCTCCATGGTCGATAAG	20mer	P=S	23
SH0105A	GCGCGCTCCATGGTCGATAA	20mer	P=S	24
SH0106A	GCGCGCTCCATGGTCGATA	20mer	P=S	25
SH0107A	ACGCGCGCTCCATGGTCGAT	20mer	P=S	26
SH0108A	GACGCGCGCTCCATGGTCGA	20mer	P=S	27
SH0109A	GGACGCGCGCTCCATGGTCG	20mer	P=S	28
SH0112A	GCAGGACGCGCGCTCCATGG	20mer	P=S	29
SH0114A	AAGCAGGACGCGCGCTCCAT	20mer	P=S	30
SH0116A	ACAAGCAGGACGCGCGCTCC	20mer	P=S	31

ヒトCD14をコードする遺伝子に対するオリゴヌクレオチド (その2)

表1の2

オリゴヌクレオチド	配列	塩基長	修飾	配列番号
○ SH0117A	AACAAGCAGGACGCGCGCTC	20mer	P=S	3 2
○ SH0118A	CAACAAGCAGGACGCGCGCT	20mer	P=S	3 3
○ SH0120A	AGCAACAAGCAGGACGCGCG	20mer	P=S	3 4
○ SH0122A	GCAGCAACAAGCAGGACGCG	20mer	P=S	3 5
○ SH0124A	CAGCAGCAACAAGCAGGACG	20mer	P=S	3 6
○ SH0126A	AGCAGCAGCAACAAGCAGGA	20mer	P=S	3 7
SH1231A	TCTTGGATCTTAGGCAAAGC	20mer	P=S	3 8
SH1241A	CATTATTCTGTCTTGGATCT	20mer	P=S	3 9
SH1256A	CAGTTTGAGTCCATTCTTA	20mer	P=S	4 0
SH1259A	AGGCAGTTTGAGTCCATTCA	20mer	P=S	4 1
SH1261A	CAAGGCAGTTTGAGTCCATT	20mer	P=S	4 2
SH1262A	CCAAGGCAGTTTGAGTCCAT	20mer	P=S	4 3
SH1263A	GCCAAGGCAGTTTGAGTCCA	20mer	P=S	4 4
SH1264A	AGCCAAGGCAGTTTGAGTCC	20mer	P=S	4 5
SH1265A	AAGCCAAGGCAGTTTGAGTC	20mer	P=S	4 6
SH1266A	GAAGCCAAGGCAGTTTGAGT	20mer	P=S	4 7
SH1267A	TGAAGCCAAGGCAGTTTGAG	20mer	P=S	4 8
SH1268A	CTGAAGCCAAGGCAGTTTGA	20mer	P=S	4 9
SH1269A	CCTGAAGCCAAGGCAGTTTG	20mer	P=S	5 0
SH1270A	CCCTGAAGCCAAGGCAGTTT	20mer	P=S	5 1
SH1271A	CCCCTGAAGCCAAGGCAGTT	20mer	P=S	5 2
SH1273A	CTCCCCTGAAGCCAAGGCAG	20mer	P=S	5 3
SH1276A	GGACTCCCCTGAAGCCAAGG	20mer	P=S	5 4
SH1281A	TGACGGGACTCCCCTGAAGC	20mer	P=S	5 5

ヒトCD14をコードする遺伝子に対するオリゴヌクレオチド (その3)

表1の3

オリゴヌクレオチド	配 列	塩基長	修飾	配列番号
SH1291A	CTCAACGTCCTGACGGGACT	20mer	P=S	5 6
SH1301A	TCGAAAAGTCCTCAACGTCC	20mer	P=S	5 7
SH1311A	GTTGAATTGGTCGAAAAGTC	20mer	P=S	5 8
SH1331A	TAATAAAGGTGGGGCAAAGG	20mer	P=S	5 9
OH0013A	CGGCTTCCAGGCTTCACACT	20mer	P=O	6 0
OH0023A	CGGCACCCGGCGGCTTCCAG	20mer	P=O	6 1
OH0033A	TCCTACACAGCGGCACCCGG	20mer	P=O	6 2
OH0043A	TTAGCTTCTTTCCTACACAG	20mer	P=O	6 3
OH0053A	TGGAAGTGCTTTAGCTTCTT	20mer	P=O	6 4
OH0063A	GGACAGGCTCTGGAAGTGCT	20mer	P=O	6 5
OH0073A	TCTGAGCTCCGGACAGGCTC	20mer	P=O	6 6
OH0083A	CTTCCGAACCTCTGAGCTCC	20mer	P=O	6 7
OH0092A	GTCGATAAGTCTTCCGAACC	20mer	P=O	6 8
OH0096A	ATGGTCGATAAGTCTTCCGA	20mer	P=O	6 9
OH0099A	TCCATGGTCGATAAGTCTTC	20mer	P=O	7 0
OH0102A	CGCTCCATGGTCGATAAGTC	20mer	P=O	7 1
OH0103A	GCGCTCCATGGTCGATAAGT	20mer	P=O	7 2
OH0104A	CGCGCTCCATGGTCGATAAG	20mer	P=O	7 3
OH0105A	GCGCGCTCCATGGTCGATAA	20mer	P=O	7 4
OH0106A	CGCGCGCTCCATGGTCGATA	20mer	P=O	7 5
OH0107A	ACGCGCGCTCCATGGTCGAT	20mer	P=O	7 6
OH0108A	GACGCGCGCTCCATGGTCGA	20mer	P=O	7 7
OH0109A	GGACGCGCGCTCCATGGTCG	20mer	P=O	7 8
OH0110A	AGGACGCGCGCTCCATGGTC	20mer	P=O	7 9

ヒトCD14をコードする遺伝子に対するオリゴヌクレオチド（その4）

表1の4

オリゴヌクレオチド	配列	塩基長	修飾	配列番号
OH0111A	CAGGACGCGCGCTCCATGGT	20mer	P=0	8 0
OH0112A	GCAGGACGCGCGCTCCATGG	20mer	P=0	8. 1
OH0113A	AGCAGGACGCGCGCTCCATG	20mer	P=0	8 2
OH0114A	AAGCAGGACGCGCGCTCCAT	20mer	P=0	8 3
OH0118A	CAACAAGCAGGACGCGCGCT	20mer	P=0	8 4
OH0102A-15mer	CATGGTCGATAAGTC	15mer	P=0	8 5
OH0102A-18mer	CTCCATGGTCGATAAGTC	18mer	P=0	8 6
OH0102A-19mer	GCTCCATGGTCGATAAGTC	19mer	P=0	8 7
OH0102A	CGCTCCATGGTCGATAAGTC	20mer	P=0	7 1
OH0102A-21mer	GCGCTCCATGGTCGATAAGTC	21mer	P=0	8 8
OH0102A-22mer	CGCGCTCCATGGTCGATAAGTC	22mer	P=0	8 9
OH0102A-25mer	ACGCGCGCTCCATGGTCGATAAGTC	25mer	P=0	9 0
OH0102A-30mer	GCAGGACGCGCGCTCCATGGTCGATAAGTC	30mer	P=0	2 2 4

マウスCD14をコードする遺伝子に対するオリゴヌクレオチド

表2

オリゴヌクレオチド	配 列	塩基長	修飾	配列番号
SM0097A	CATGGTCGGTAGATTCTGAA	20mer	P=S	9.1
SM0101-0220A	CACACGCTCCATGGTCGGTAGATTC	25mer	P=S	9.2
SM0102A-25mer	GCACACGCTCCATGGTCGGTAGATT	25mer	P=S	9.3
SM0103A-25mer	AGCACACGCTCCATGGTCGGTAGAT	25mer	P=S	9.4
SM0104A-25mer	AAGCACACGCTCCATGGTCGGTAGA	25mer	P=S	9.5
SM0105A-25mer	CAAGCACACGCTCCATGGTCGGTAG	25mer	P=S	9.6
SM0106A-25mer	CCAAGCACACGCTCCATGGTCGGTA	25mer	P=S	9.7
SM0107-0226A -25mer	GCCAAGCACACGCTCCATGGTCGGT	25mer	P=S	9.8
SM0109-25mer	AAGCCAAGCACACGCTCCATGGTCG	25mer	P=S	9.9
SM0111-25mer	ACAAGCCAAGCACACGCTCCATGGT	25mer	P=S	10.0
SM0105A-21mer	CACACGCTCCATGGTCGGTAG	21mer	P=S	25.8

実施例4 ヒトCD14 RNAの合成

In vitro transcription反応は、Ribo max system (プロメガ社製) を用いて添付の方法に準じて行った。pGEM1uc(ctg)H14-3プラスミドをXhoIで消化しKlenow fragmentで末端を平滑化した。次にこの20 μ gのpGEM1uc(ctg)H14-3をテンプレートとし7メチルグアニン存在下SP6ポリメラーゼを用いて、37℃で4時間インキュベートすることによりin vitro transcription反応を行った。DNaseで反応物を処理しフェノールで抽出した。その反応液をエタノール沈殿し、生じたRNAペレットを風乾後、蒸留水に溶解した。合成したRNAは、変性アガロース電気泳動により1.4 kbの単一バンドであること確認した。

実施例5 ヒト非翻訳領域に相補的なオリゴヌクレオチドによるCD14 翻訳阻害活性の検出

in vitro translation反応はプロメガ社Rabbit Reticulocyte Lysate Systemを用いて添付の方法に準じて行った。すなわち、合成したpGEM1uc(ctg)H14-3 RNAと被験未修飾オリゴヌクレオチドを1対10で混合し60℃で2分間加熱した。その後混合液にアミノ酸、Rabbit Reticulocyte Lysateを加えて、30℃で2時間インキュベートした。10 μ lの反応混合液と当量の発光基質液(luciferase assay system:プロメガ社)を混合し5秒間室温で反応させ反応液の発光強度を発光測定器(LumatLB96P)を用いて測定した。その結果を図1に示す。翻訳阻止活性はコントロールオリゴヌクレオチド(ランダムな配列を持つ20 merのフォスフォジエステルオリゴヌクレオチド)処理時の蛍光量を100%として算出した。30%以上の阻害活性を示す配列

は、OH0013A、OH0023A、OH0033A、OH0043A、OH0053A、OH0099A、OH0102A、OH0103A、OH0104A、OH0105A、OH0106A、OH0107A、OH0108A、OH0109A、OH0110A、OH0112AおよびOH0114Aであった。特に翻訳開始部位の近傍に強い翻訳阻害活性が見出された。

実施例6 異なる塩基長のオリゴヌクレオチドのCD14翻訳阻害活性

塩基長の異なる8種類のアンチセンスオリゴヌクレオチド(OH0102A-15mer、OH0102A-18mer、OH0102A-19mer、OH0102A、OH0102A-21mer、OH0102A-22mer、OH0102A-25mer、OH0102A-30merそれぞれの塩基長は15mer、18mer、19mer、20mer、21mer、22mer、25mer、30mer)およびコントロールオリゴヌクレオチドを用い実施例5の方法で翻訳阻止活性を検討した。その結果、塩基長によらず用いた全てのオリゴヌクレオチドで翻訳阻害活性が検出された(図2)。

実施例7 ヒトTNF α 産生阻害活性の測定(5'非翻訳領域および翻訳開始部位近傍)

THP-1細胞を10%非働化牛胎児血清を含むRPMI1640培地に浮遊し、 1×10^5 cells/wellで24ウェルプレートに植え込み10 ng/mlのPhorbol 12-Myristate 13-Acetate (SIGMA社製)存在下24時間培養した。培地を交換し、終濃度100 nMになるようにオリゴヌクレオチド溶液を培養液に加えた。4時間インキュベーションした後、培養上清を除去し細胞を洗浄した。細胞を再び40 ng/mlの $1\alpha, 25$ -DihydroxyvitaminD₃ (BIOMOL

リサーチ社製) 存在下 10 % 非働化牛胎児血清を含む RPMI1640 培地で 20 時間培養した。細胞を洗浄後、1 ng/ml のリポ多糖 (LPS) (E. coli 055 : B5、Difco 社製) を添加した 2 % ヒト血清を含む RPMI1640 に置換した。4 時間インキュベーションし、培養上清を採取した。培養上清中の TNF α は、ヒト TNF α ELISA SYSTEM (アマシャム社製) で測定した。

TNF α の測定はヒト TNF α ELISA SYSTEM 添付のプロトコールに従った。即ち、適切に希釈した培養上清 50 μ l を反応プレートに移し 50 μ l のビオチン化抗体溶液を加えて室温で 2 時間放置した。反応液を除去し 400 μ l/well の洗浄液で 3 回各ウェルを洗浄した。適切に希釈したペルオキシダーゼを標識したストレプトアビジン溶液を 100 μ l 加え、さらに 30 分放置した。洗浄後、発色基質 100 μ l を添加し 15 分間反応させた。停止液 100 μ l を加え反応を停止し、450 nm の波長の吸光度を測定し、サンプル中の TNF α 値を算出した。その結果を図 3 に示す。

TNF α 産生阻害活性は、SH0023A、SH0033A、SH0038A、SH0043A、SH0063A、SH0093A、SH0096A、SH0099A、SH0102A、SH0104A、SH0105A、SH0106A、SH0107A、SH0108A、SH0109A、SH0112A、SH0117A、SH0118A、SH0120A、SH0122A、SH0124A および SH0126A で検出された。この結果は実施例 4 の翻訳阻害活性を示したオリゴヌクレオチドの結果と良く相関していた。

また、活性を示す配列は大きく分けてヒト CD14 mRNA の 5' 非翻訳領域および翻訳開始部位近傍 3 つの領域に相補的であることが見出された。活性領域 1 は CUGGAAGCCGCCGGGUGCCGUGUGUAGGAAAGAAGCUAAA の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。活性領域 2 は GGUUCGGAAGACUUAUCGACCA

UGGAGCGCGCGUCCUGC の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。さらに活性領域 3 は活性領域 2 と重なって存在し GAGCGCGCGUCCUGCUUG UUGCUGCUGCU の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。

実施例 8 ヒト TNF α 産生阻害活性の測定 (3' 非翻訳領域)

実施例 7 と同一な方法でヒト CD 14 mRNA の 3' 非翻訳領域に対するオリゴヌクレオチドの TNF α 産生阻害実験の結果を図 4 に示す。

TNF α 産生阻害活性は、SH1241A、SH1256A、SH1259A、SH1261A、SH1264A、SH1265A、SH1266A、SH1267A、SH1268A、SH1269A、SH1270A、SH1271A、SH1273A、SH1276A、SH1281A、SH1291A、SH1301A、SH1311A および SH1331A で検出された。また、活性を示す配列は大きく分けて 4 つの領域に相補的であることが見出された。活性領域 4 は AGAUCCAAGACAGAAUAAUGAAUGGACUCAAACU GCCUUG の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。活性領域 5 は GGACUCAAACUGCCUUGGCUU の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。さらに活性領域 6 は活性領域 5 と重なって存在し CUCAAACUGCCUUGGCUUCAGGGAGUCCCGUCAGGACGULGAGGACUULCCGA の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。さらに活性領域 7 は GGACGULGAGGACUULCCGACCAAUCAACCCUUGCCCCACCUUUAUUA の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドにより示された。

実施例 9 マウス TNF α 産生阻害活性の測定 (5' 非翻訳領域および翻訳開始部位近傍)

J774A.1 細胞を 10% 非働化牛胎児血清を含む DMEM 培地に浮遊し、0.5

$\times 10^5$ cells/wellで24ウェルプレートに植え込み24時間培養した。培地交換し終濃度100 nMになるようにオリゴヌクレオチド溶液を培養液に加えた。4時間インキュベーションした後、培養上清を除去し細胞を洗浄した。10%非働化牛胎児血清を含むRPMI1640培地で20時間培養した。細胞を洗浄後、リポ多糖(LPS)(E. coli 0111:B4、DIFCO社製)を終濃度100 ng/mlになるように添加した。2%マウス血清を含むDMEMに置換した。4時間インキュベーションし、培養上清を採取した。培養上清中のTNF α は、マウスTNF α ELISA SYSTEM(アマシャム社製)で測定した。

TNF α の測定はマウスTNF α ELISA SYSTEM添付のプロトコールに従い行った。すなわち、適切に希釈した培養上清50 μ lを反応プレートに移し50 μ lのビオチン化抗体溶液を加えて室温で2時間放置した。反応液を除去し400 μ l/wellの洗浄液で3回各ウェルを洗浄した。適切に希釈したペルオキシダーゼを標識したストレプトアビジン溶液を100 μ l加えさらに30分放置した。洗浄し、発色基質を100 μ lを添加し15分間反応させた。停止液100 μ lを加え反応を停止し、450 nmの波長の吸光度を測定し、TNF α 値を算出した。その結果を図5に示した。

マウスTNF α 産生阻害活性は、マウスCD14 mRNAの翻訳開始領域近傍に相補的配列を持つアンチセンス化合物、例えばSM0101-0220A、SM0102A-25mer、SM0103A-25mer、SM0104A-25mer、SM0105A-25mer、SM0106A-25mer、SM0107-0226A-25merおよびSM0109-25merで強い活性が検出された。

実施例10 マウスショックモデルにおけるSM0105Aの効果

マウスCD14をコードする遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド

SM0105A-21merを使用して、以下の実験を行った。

(1) 致死性エンドトキシンショックモデルにおける効果

生後6週齢のB a l b / c 雄性マウス（日本チャールズリバー社製）を、体重を基に7群（各群10匹）に群分けした。その後SM0105Aオリゴヌクレオチドを3mg/kgから0.3mg/kg、コントロールオリゴヌクレオチド（ランダムな配列を持つ21merのフォスフォロチオエートオリゴヌクレオチド）を3mg/kg～0.3mg/kgあるいは生理食塩液10ml/kg（陰性対照用、大塚製薬）を尾静脈より単回投与した。

被験薬物投与の24時間後に、L P S（E. coli 055:B5, Difco社製）5μg/kgおよびガラクトサミン（D-Galactosamine hydrochloride, 和光純薬社製）700mg/kgを尾静脈より投与し、ショックを誘発した。メチルプレドニゾン0.3mg/kgはL P S投与直前に投与した。ショック誘発後24時間目まで経時的に生存率を判定した。

結果を図6に示した。陰性対照群である生理食塩液投与群ではショック誘発後9時間目までに全例死亡した。また、コントロールオリゴヌクレオチドを投与した群では何れの投与量においてもショック誘発後10時間目までに全例死亡した。一方SM0105Aオリゴヌクレオチド投与群では、3mg/kg投与群では24時間後でも全例生存し、1mg/kg投与群では9例、0.3mg/kg投与群でも2例の生存が確認された。SM0105Aを0.3mg/kg投与した時の生存率は、同用量のメチルプレドニゾンを投与した時の生存率と同等であった。この結果より、SM0105Aの用量依存的な生存率改善作用が確認された。

(2) 致死性エンドトキシンプレシヨックモデルにおけるSM0105Aの効果

Matsumoto, T. 等の方法 (FEMS Immunology and Medical Microbiology 17, 171-178 (1997)) の方法に準じて行った。自由摂水・摂餌した6週齢の雄性Balb/cマウスに、サイクロフォスファミド (cyclophosphamide; 以下CPA) を200 mg/kgの用量で尾静脈投与した。CPA投与後7日目に、生理食塩水に溶解したイータカラゲニン (iota carrageenan (Sigma 社製)) を5 mg腹腔内投与した。イータカラゲニンの投与後12時間にLPS (E. coli 127 :B8、Difco 社製) を30 µg/kgの用量で尾静脈より投与し、LPS投与後1および24時間に、ヘパリン溶液 (1000 IU/ml、持田製薬) で処理しておいたガラス毛细管 (Drummond Scientific Company) を用いて、50 µl眼底静脈より採取した血液を遠心分離して血漿を採取し、GPT活性を血中GPT活性測定用スライドGPT/ALT-P、富士フイルム) および富士DRI-CHEM 5000 (富士フイルム) を用いて測定した。溶媒 (生理食塩水)、コントロールオリゴヌクレオチド およびSM0105Aは、LPS投与前24時間に10 ml/kgの容量で尾静脈より投与し、水溶性プレドニゾン (prednisolone) はLPS投与直前に同様にして投与した。

その結果、溶媒投与群で50%の生存率に比較しSM0105A投与群およびプレドニゾン投与群では100%の生存率を示した。SM0105A投与群では肝臓においてGTPの著しい上昇の抑制が見出されたが、このような効果はプレドニゾン投与群では確認できなかった (図7)。

実施例 11 マウスにおける急性毒性

SM105A-21merを使用して以下の実験を行った。

生後6週齢のBalb/c雄性マウス（日本チャールズリバー社製）を、体重を基に2群（各群4匹）に群分けした。その後、SM0105A、コントロールオリゴヌクレオチド（ランダムな配列を持つ21merのフォスフォロチオエートオリゴヌクレオチド）をそれぞれ30mg/kg、あるいは生理食塩水10ml/kg（陰性対照用、大塚製薬社製）を尾静脈より単回投与した。その後7日目まで経時的に生存率もしくは血中GOT値を測定した。

生理食塩水投与群およびオリゴヌクレオチド投与群とも全例生存した血中GOT値も正常域内であり、両群で差がなかった。

実施例 12 ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白質発現阻害活性の測定

(1) ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白質を発現するHeLa組換え細胞株の樹立

ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現阻害実験に用いるHeLa組換え細胞株を樹立するために、ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白質発現プラスミド（pM1651）の構築を行った。すなわち実施例2で作製したpGEM1ucH14-9よりHindIIIおよびXhoIで切断した遺伝子断片をpCDNA3.1(+)(Invitrogen社)のHindIII/XhoIサイトに常法に従い挿入し、JM109細胞を用いてクローニングしpM1651を得た。

ヒト子宮頸癌由来細胞であるHeLa細胞にpM1651を導入し、ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白質を発現するHeLa組換え細胞株の樹立を

行った。すなわち直径100mmのdishに 5×10^5 個のHeLa細胞を植え込み、一晚培養した後に10 μ gのpM1651をリン酸カルシウム法で導入した。10%牛胎児血清を含むDMEM培地にて一晚培養した。細胞を96ウェルプレートに100あるいは500個/ウェルずつ播種し、その翌日からG-418を含む培地で組換え細胞株の選択を行った。得られたG-418耐性株のうちルシフェラーゼ活性を示したHe1651d3-20クローンを用いてアンチセンスオリゴによる蛋白質発現阻害実験を行った。

(2) ヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現阻害活性の測定 (5' 非翻訳領域、翻訳開始部位近傍領域および5' 翻訳領域)

(1) で準備したHeLa組換え細胞(He1651d3-20)を10%牛胎児血清、0.6mg/mL G-418を含むDMEM培地に浮遊し、 1×10^5 cells/wellで24ウェルプレートに植え込み一晚培養した。大塚生理食塩水で2度洗浄した後に、Opti-MEM培地(GibcoBRL社)を450 μ L/well添加した。引き続き、GibcoBRL社のマニュアルに従い、リポフェクチンと配列番号9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 35, 37のオリゴヌクレオチド終濃度100nMをになるように添加し、37°Cで6時間インキュベーションし培養上清を除去し洗浄した。細胞を再び10%牛胎児血清、0.6mg/mL G-418を含むDMEM培地でさらに一晚培養した。細胞を洗浄後、PassiveLysisBuffer(Promega社)に細胞を溶解した。そのうち20 μ Lを用い、細胞溶解液中のルシフェラーゼ活性を測定した。ルシフェラーゼ活性測定はPromega社のプ

ロトコールに従い行った。即ち、蛍光測定用プレート（D Y N E X 社、M i c r o l i t e 2 p l a t e）中で細胞溶解液と L u c i f e r a s e A s s a y R e a g e n t I I（P r o m e g a 社）を混合し反応を開始し、10秒間の発光強度を測定した。測定には b e r t h o l d 社のルミノメーター（L B 9 6 P）を用いた。各オリゴヌクレオチドの蛋白発現阻害活性はオリゴヌクレオチドを添加しないサンプルの発光強度を100%として計算した。その結果を、図8に示す。5'非翻訳領域で40%以上の阻止活性を示したアンチセンスオリゴヌクレオチドはSH0023A、SH0033A、SH0038A およびSH0043Aであった。一方、翻訳開始領域で40%以上の阻止活性を示したアンチセンスオリゴヌクレオチドは、SH0102A、SH0104A、SH0105A、SH0106A、SH0107A、SH0108A、SH0109A、SH0112A、SH0114A、SH0117A、SH0118A、SH0122A およびSH0126Aであった。これらの細胞を用いた蛋白発現抑制活性の結果は、実施例5のin vitro translation反応によるCD14翻訳阻害活性の結果によく一致していた。

実施例13 RNase II切断実験によるアンチセンスオリゴ結合測定

2 μ gの実施例4で得たヒトCD14に対するRNAと表3に示した被験未修飾オリゴヌクレオチドを1:1のモル比で混合し、5倍濃度のRNase II緩衝液1 μ lおよび適量の蒸留水を加え4 μ lの混合液を調整した。この混合液を75℃で加熱した後冷却し、0.05 μ lのRNase IIを加え37℃で15分間反応した。10 μ lの2倍濃度の停止溶液（95%ホルムアミド、0.5mMEDTApH8.0、0.025% SDS、0.025% Xylene Cyanol、0.025% BPB）を加えて反応を停止した。4 μ lの被験物を65℃で前処理し、6M尿素変性5%ポリアクリルアミド

ゲル（幅 160 mm、高さ 330 mm、厚さ 0.35 mm）で 15 mA／プレートで電気泳動した。5000 倍に希釈した SYBER Green II（和光純薬製）で染色し生じたバンドを FluorImager SI（モリキュラーダイナミックス社製）で測定した。結合活性のスコアは以下の式により算定した。

結果を表 4 にまとめた。

結合値 = (被験オリゴヌクレオチド蛍光値 - コントロールオリゴヌクレオチド蛍光値) / (SH0102A 蛍光値 - コントロールオリゴヌクレオチド蛍光値)

スコア	結合値
0	$0.5 > X$
1	$0.9 > X \geq 0.5$
2	$1.3 > X \geq 0.9$
3	$X \geq 1.3$

表 3 の 1

オリゴヌクレオチド	配 列	修飾	塩基長	配列番号
OH0083A-15mer	GAACCTCTGAGCTCC	P=0	15mer	101
OH0102A-15mer	CATGGTCGATAAGTC	P=0	15mer	85
OH0104A-15mer	TCCATGGTCGATAAG	P=0	15mer	102
OH0114A-15mer	GGACGCGCGCTCCAT	P=0	15mer	103
OH0134A-15mer	AGCAGCAGCAGCAAC	P=0	15mer	104
OH0144A-15mer	CACCAGCGGCAGCAG	P=0	15mer	105
OH0154A-15mer	CAGAGACGTGCACCA	P=0	15mer	106
OH0164A-15mer	GGCGTGGTCGCAGAG	P=0	15mer	107
OH0174A-15mer	ACAAGGTTCTGGCGT	P=0	15mer	108
OH0184A-15mer	CGTCCAGCTCACAAG	P=0	15mer	109
OH0194A-15mer	AAATCTTCATCGTCC	P=0	15mer	110
OH0204A-15mer	GACGCAGCGGAAATC	P=0	15mer	111
OH0214A-15mer	AGAAGTTGCAGACGC	P=0	15mer	112
OH0224A-15mer	TGAGGTTCCGAGAAG	P=0	15mer	113
OH0234A-15mer	CCAGTCGGGCTGAGG	P=0	15mer	114
OH0244A-15mer	AGGCTTCGGACCACT	P=0	15mer	115
OH0254A-15mer	ACACACTGGAAGGCT	P=0	15mer	116
OH0264A-15mer	TACTGCAGACACACA	P=0	15mer	117
OH0274A-15mer	TCTCCACCTCTACTG	P=0	15mer	118
OH0284A-15mer	CCGGCATGGATCTCC	P=0	15mer	119
OH0294A-15mer	GTTGAGACCGCCGGC	P=0	15mer	120
OH0304A-15mer	ACGGCTCTAGGTTGA	P=0	15mer	121

表 3 の 2

オリゴヌクレオチド	配 列	修飾	塩基長	配列番号
OH0314A-15mer	CGCTTTAGAAACGGC	P=0	15mer	122
OH0324A-15mer	CGCATCGACGCGCTT	P=0	15mer	123
OH0334A-15mer	GGTCGGCGTCCGCAT	P=0	15mer	124
OH0344A-15mer	TACTGCCGCGGGTCG	P=0	15mer	125
OH0354A-15mer	CGTGTCAGCATACTG	P=0	15mer	126
OH0364A-15mer	GAGCCTTGACCGTGT	P=0	15mer	127
OH0374A-15mer	CGCACGCGGAGAGCC	P=0	15mer	128
OH0384A-15mer	TGTGAGCCGCCGCAC	P=0	15mer	129
OH0394A-15mer	CGGCTCCCACTGTGA	P=0	15mer	130
OH0404A-15mer	GGAACCTGTGCGGCT	P=0	15mer	131
OH0414A-15mer	TAGCTGAGCAGGAAC	P=0	15mer	132
OH0424A-15mer	CGCCTACCAGTAGCT	P=0	15mer	133
OH0434A-15mer	ACACGCAGGGCGCCT	P=0	15mer	134
OH0444A-15mer	GTACGCTAGCACACG	P=0	15mer	135
OH0454A-15mer	TGAGGCGGGAGTACG	P=0	15mer	136
OH0464A-15mer	GTCAGTTCCTTGAGG	P=0	15mer	137
OH0474A-15mer	GTCCTCGACCGTCAG	P=0	15mer	138
OH0484A-15mer	TTATCTTTAGGTCCT	P=0	15mer	139
OH0494A-15mer	ATGGTGCCCGGTTATC	P=0	15mer	140
OH0504A-15mer	CAGCGGAGGCATGGT	P=0	15mer	141

表 3 の 3

オリゴヌクレオチド	配 列	修飾	塩基長	配列番号
OH0514A-15mer	CTTCCAGAGGCAGCG	P=0	15mer	142
OH0524A-15mer	AGTCCTGTGGCTTCC	P=0	15mer	143
OH0534A-15mer	GGAAAGTGCAAGTCC	P=0	15mer	144
OH0544A-15mer	GGCGCAAGCTGGAAG	P=0	15mer	145
OH0554A-15mer	ACGTTGCGTAGGCGC	P=0	15mer	146
OH0564A-15mer	CGCCCACGACACGTT	P=0	15mer	147
OH0574A-15mer	AACGCCCTGTGCCCC	P=0	15mer	148
OH0584A-15mer	GCGAGCCAAGAACGC	P=0	15mer	149
OH0594A-15mer	CTGCAGCTCGGCGAG	P=0	15mer	150
OH0604A-15mer	TGAGCCACTGCTGCA	P=0	15mer	151
OH0614A-15mer	AGGCCTGGCTTGAGC	P=0	15mer	152
OH0624A-15mer	CAGTACCTTGAGGCC	P=0	15mer	153
OH0634A-15mer	GGGCAATGCTCAGTA	P=0	15mer	154
OH0644A-15mer	GAGTGTGCTTGGGCA	P=0	15mer	155
OH0654A-15mer	AAAGGCAGGCGAGTG	P=0	15mer	156
OH0664A-15mer	GTTCGTAGGAAAAGG	P=0	15mer	157
OH0674A-15mer	GCGCGAACCTGTTCC	P=0	15mer	158
OH0684A-15mer	GGCCGGGAAGGCGCG	P=0	15mer	159
OH0694A-15mer	GGCTGGTAAGGCGCG	P=0	15mer	160
OH0704A-15mer	GACAGGTCTAGGCTG	P=0	15mer	161

表 3 の 4

オリゴヌクレオチド	配 列	修飾	塩基長	配列番号
OH0714A-15mer	AGGATTGTCAGACAG	P=0	15mer	162
OH0724A-15mer	CGCCCAGTCCAGGAT	P=0	15mer	163
OH0734A-15mer	AGTCCGCGTTTCGCCC	P=0	15mer	164
OH0744A-15mer	AGCCGCCATCAGTCC	P=0	15mer	165
OH0754A-15mer	GGGGACAGAGAGCCG	P=0	15mer	166
OH0764A-15mer	GGGAACTTGTGGGGA	P=0	15mer	167
OH0774A-15mer	CTGGATGGCCGGGAA	P=0	15mer	168
OH0784A-15mer	GCGCTAGATTCTGGA	P=0	15mer	169
OH0794A-15mer	GTGTTGCGCAGCGCT	P=0	15mer	170
OH0804A-15mer	CTCCATTCTGTGTT	P=0	15mer	171
OH0814A-15mer	CTGTGGGCGTCTCCA	P=0	15mer	172
OH0824A-15mer	GCGCACACGCCTGTG	P=0	15mer	173
OH0834A-15mer	CGCCAGTGCCGGCCCA	P=0	15mer	174
OH0844A-15mer	CACCTGCCGCCGCCCA	P=0	15mer	175
OH0854A-15mer	TGGGGCTGCACACCT	P=0	15mer	176
OH0864A-15mer	GTCTAGGCTGTGGGG	P=0	15mer	177
OH0874A-15mer	TGTGGCTGAGGTCTA	P=0	15mer	178
OH0884A-15mer	CGCAGCGAGTTGTGG	P=0	15mer	179
OH0894A-15mer	TACGGTGGCGCGCAG	P=0	15mer	180
OH0904A-15mer	CGCTAGGGTTTACGG	P=0	15mer	181
OH0914A-15mer	CATCTCGGAGCGCTA	P=0	15mer	182
OH0924A-15mer	GGACCACATGCATCT	P=0	15mer	183
OH0934A-15mer	TCAGGGCGCTGGACC	P=0	15mer	184
OH0944A-15mer	TTGAGGGAGTTCAGG	P=0	15mer	185
OH0954A-15mer	GAACGACAGATTGAG	P=0	15mer	186

表 3 の 5

オリゴヌクレオチド	配 列	修飾	塩基長	配列番号
OH0964A-15mer	CCAGCCCAGCGAACG	P=0	15mer	187
OH0974A-15mer	GGCACCTGTTCCAGC	P=0	15mer	188
OH0984A-15mer	CAGTCCTTTAGGCAC	P=0	15mer	189
OH0994A-15mer	GCTTGGCTGGCAGTC	P=0	15mer	190
OH1004A-15mer	AGCACTCTGAGCTTG	P=0	15mer	191
OH1014A-15mer	GCTGAGATCGAGCAC	P=0	15mer	192
OH1024A-15mer	GTCTGTTGCAGCTGA	P=0	15mer	193
OH1034A-15mer	GCCCTGTTCACTCTG	P=0	15mer	194
OH1054A-15mer	GCAGCTCGTCAGGCT	P=0	15mer	195
OH1064A-15mer	TCCACCTCGGGCAGC	P=0	15mer	196
OH1074A-15mer	TGTCAGGTTATCCAC	P=0	15mer	197
OH1084A-15mer	TCCCGTCCAGTGCA	P=0	15mer	198
OH1094A-15mer	AGGAAGGGATTCCCG	P=0	15mer	199
OH1104A-15mer	TCCAGGGACCAGGAA	P=0	15mer	200
OH1114A-15mer	GGAGGGCAGTTCCAG	P=0	15mer	201
OH1124A-15mer	CCCTCGTGGGGGAGG	P=0	15mer	202
OH1134A-15mer	GTTCATTGAGCCCTC	P=0	15mer	203
OH1144A-15mer	CCACGCCGGAGTTCA	P=0	15mer	204
OH1154A-15mer	CAGGCTGGGACCACC	P=0	15mer	205
OH1164A-15mer	CGAACGTGCACAGGC	P=0	15mer	206
OH1174A-15mer	CCGACAGGGTCCAAC	P=0	15mer	207
OH1184A-15mer	GACACCCCCACCGAC	P=0	15mer	208
OH1194A-15mer	CAGGGTTCCCGACAC	P=0	15mer	209
OH1204A-15mer	GGAGCAGCACCAGGG	P=0	15mer	210

表 3 の 6

オリゴヌクレオチド	配列	修飾	塩基長	配列番号
OH1214A-15mer	CGGGCCCCCTTGGAGC	P=0	15mer	211
OH1224A-15mer	GGCAAAGCCCCGGGC	P=0	15mer	212
OH1234A-15mer	TTGGATCTTAGGCAA	P=0	15mer	213
OH1244A-15mer	TTATTCTGTCTTGGA	P=0	15mer	214
OH1254A-15mer	AGTCCATTCAATTATT	P=0	15mer	215
OH1264A-15mer	AGGCAGTTTGAGTCC	P=0	15mer	216
OH1274A-15mer	CCTGAAGCCAAGGCA	P=0	15mer	217
OH1284A-15mer	ACGGGACTCCCCTGA	P=0	15mer	218
OH1294A-15mer	CAACGTCCTGACGGG	P=0	15mer	219
OH1304A-15mer	GAAAAGTCCTCAACG	P=0	15mer	220
OH1314A-15mer	TGAATTGGTCGAAAA	P=0	15mer	221
OH1324A-15mer	GGCAAAGGGTTGAAT	P=0	15mer	222
OH1334A-15mer	ATAAAGGTGGGGCAA	P=0	15mer	223

表 4 の 1

オリゴヌクレオチド	配列番号	結合活性 (スコア)
OH0083A-15mer	101	0
OH0102A-15mer	85	1
OH0104A-15mer	102	2
OH0114A-15mer	103	1
OH0134A-15mer	104	0
OH0144A-15mer	105	0
OH0154A-15mer	106	0
OH0164A-15mer	107	0
OH0174A-15mer	108	0
OH0184A-15mer	109	2
OH0194A-15mer	110	0
OH0204A-15mer	111	0
OH0214A-15mer	112	0
OH0224A-15mer	113	0
OH0234A-15mer	114	0
OH0244A-15mer	115	0
OH0254A-15mer	116	0
OH0264A-15mer	117	0
OH0274A-15mer	118	0
OH0284A-15mer	119	1
OH0294A-15mer	120	0
OH0304A-15mer	121	0

表 4 の 2

オリゴヌクレオチド	配列番号	結合活性 (スコア)
OH0314A-15mer	122	0
OH0324A-15mer	123	1
OH0334A-15mer	124	1
OH0344A-15mer	125	2
OH0354A-15mer	126	0
OH0364A-15mer	127	0
OH0374A-15mer	128	0
OH0384A-15mer	129	0
OH0394A-15mer	130	1
OH0404A-15mer	131	0
OH0414A-15mer	132	0
OH0424A-15mer	133	0
OH0434A-15mer	134	0
OH0444A-15mer	135	1
OH0454A-15mer	136	1
OH0464A-15mer	137	2
OH0474A-15mer	138	2
OH0484A-15mer	139	0
OH0494A-15mer	140	0
OH0504A-15mer	141	0

表 4 の 3

オリゴヌクレオチド	配列番号	結合活性 (スコア)
OH0514A-15mer	142	0
OH0524A-15mer	143	0
OH0534A-15mer	144	1
OH0544A-15mer	145	0
OH0554A-15mer	146	0
OH0564A-15mer	147	0
OH0574A-15mer	148	0
OH0584A-15mer	149	0
OH0594A-15mer	150	0
OH0604A-15mer	151	0
OH0614A-15mer	152	0
OH0624A-15mer	153	0
OH0634A-15mer	154	0
OH0644A-15mer	155	1
OH0654A-15mer	156	1
OH0664A-15mer	157	0
OH0674A-15mer	158	0
OH0684A-15mer	159	1
OH0694A-15mer	160	1

表 4 の 4

オリゴヌクレオチド	配列番号	結合活性 (スコア)
OH0704A-15mer	161	2
OH0714A-15mer	162	2
OH0724A-15mer	163	2
OH0734A-15mer	164	1
OH0744A-15mer	165	1
OH0754A-15mer	166	0
OH0764A-15mer	167	0
OH0774A-15mer	168	0
OH0784A-15mer	169	0
OH0794A-15mer	170	1
OH0804A-15mer	171	2
OH0814A-15mer	172	2
OH0824A-15mer	173	0
OH0834A-15mer	174	0
OH0844A-15mer	175	0
OH0854A-15mer	176	0
OH0864A-15mer	177	2
OH0874A-15mer	178	2
OH0884A-15mer	179	2
OH0894A-15mer	180	2
OH0904A-15mer	181	2

表 4 の 5

オリゴヌクレオチド	配列番号	結合活性 (スコア)
OH0914A-15mer	182	0
OH0924A-15mer	183	1
OH0934A-15mer	184	0
OH0944A-15mer	185	1
OH0954A-15mer	186	0
OH0964A-15mer	187	0
OH0974A-15mer	188	1
OH0984A-15mer	189	0
OH0994A-15mer	190	1
OH1004A-15mer	191	1
OH1014A-15mer	192	1
OH1024A-15mer	193	2
OH1034A-15mer	194	2
OH1054A-15mer	195	0
OH1064A-15mer	196	2
OH1074A-15mer	197	2
OH1084A-15mer	198	1
OH1094A-15mer	199	1
OH1104A-15mer	200	0
OH1114A-15mer	201	0
OH1124A-15mer	202	0
OH1134A-15mer	203	0
OH1144A-15mer	204	0

表 4 の 6

オリゴヌクレオチド	配列番号	結合活性 (スコア)
OH1154A-15mer	205	0
OH1164A-15mer	206	1
OH1174A-15mer	207	0
OH1184A-15mer	208	0
OH1194A-15mer	209	2
OH1204A-15mer	210	3
OH1214A-15mer	211	0
OH1224A-15mer	212	0
OH1234A-15mer	213	0
OH1244A-15mer	214	0
OH1254A-15mer	215	3
OH1264A-15mer	216	3
OH1274A-15mer	217	0
OH1284A-15mer	218	0
OH1294A-15mer	219	0
OH1304A-15mer	220	2
OH1314A-15mer	221	2
OH1324A-15mer	222	0
OH1334A-15mer	223	0

切断活性を示したアンチセンスオリゴヌクレオチドのうち翻訳開始領域に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドは、OH0102A-15mer、OH0104A-15mer、OH0114A-15merで、3'非翻訳領域に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドは、OH1254A-15mer、OH1264A-15mer、OH1304A-15mer、およびOH1314A-15merであった。これらのオリゴヌクレオチドは、実施例7および8のヒトTNF α 産生阻害活性の測定結果から、TNF α 産生阻害に有効であると考えられた活性領域2、4、7の一部に相補的な配列を有するものである。したがって、RNaseH切断実験の結果はTNF α 産生阻害活性の結果とよく一致していた。

実施例14 ヒトTNF α 産生阻害活性の測定（翻訳領域）

実施例13で明らかになったアンチセンスオリゴヌクレオチド結合領域について各領域で代表的なアンチセンスオリゴヌクレオチド（表5参照）を実施例3の方法で合成し実施例7に記載の方法により評価した。すなわち、SH0108A、SH0184A、SH0324A、SH0394A、SH0444A、SH0457A、SH0470A、SH0534A、SH0649A、SH0714A、SH0720A、SH0809A、SH0864A、SH0899A、SH1014A、SH1074A、SH1199A、SH1204A、SH1259A、SH1311A およびコントロールオリゴヌクレオチドを終濃度30nMで、THP-1細胞に処理した。4時間インキュベーションし、培養上清を採取した。培養上清中のTNF α は、ヒトTNF α ELISA SYSTEM（アマシャム社製）で測定した。

表 5

オリゴヌクレオチド	配 列	塩基長	修飾	配列番号
SH0108A	GACGCGCGCTCCATGGTCCA	20mer	P=S	27
SH0184A	TTCATCGTCCAGCTCACAAG	20mer	P=S	225
SH0324A	GCGTCCGCATCGACGCGCTT	20mer	P=S	226
SH0394A	CTGTGCGGCTCCCACTGTGA	20mer	P=S	227
SH0444A	CGGGAGTACGCTAGCACACG	20mer	P=S	228
SH0457A	CAGTTCCTTGAGGCGGGAGT	20mer	P=S	229
SH0470A	GGTCCTCGAGCGTCAGTTCC	20mer	P=S	230
SH0534A	AAGCTGGAAAGTGCAAGTCC	20mer	P=S	231
SH0649A	AAAGGCAGGCGAGTGTGCTT	20mer	P=S	232
SH0714A	AGTCCAGGATTGTCAGACAG	20mer	P=S	233
SH0720A	TCGCCCAGTCCAGGATTGTC	20mer	P=S	234
SH0809A	CTGTGGGCGTCTCCATTCCCT	20mer	P=S	235
SH0864A	CTGAGGTCTAGGCTGTGGGG	20mer	P=S	236
SH0899A	CGCTAGGGTTTACGGTGGCG	20mer	P=S	237
SH1014A	TTGCAGCTGAGATCGAGCAC	20mer	P=S	238
SH1074A	TCCAGTGTGAGTTATCCAC	20mer	P=S	239
SH1199A	GGAGCAGCACCAGGGTTCCC	20mer	P=S	240
SH1204A	CCCTTGGAGCAGCACCAGGG	20mer	P=S	241
SH1259A	AGGCAGTTTGAGTCCATTCA	20mer	P=S	41
SH1311A	GTTGAATTGGTCGAAAAGTC	20mer	P=S	58

結果を図 9 に示す。これにより、以下に示す 1 2 の領域で阻止活性が確認できた。

活性領域 8 はCUUGUGAGCUGGACGAの配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0184A によって示された。

活性領域 9 はAAGCGCGUCGAUGCGGACGCCGACCCGCGGCAGUA の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0324A によって示された。

活性領域10はUCACAGUGGGAGCCG の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0394A によって示された。

活性領域11はCGUGUGCUAGCGUACUCCCGCCUCAAGGAACUGACGCUCGAGGAC の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0444A 、 SH0457A およびSH0470A によって示された。

活性領域 1 2 はGGACUUGCACUUUCC の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0534A によって示された。

活性領域 1 3 はUACUGAGCAUUGCCCAAGCACACUCGCCUGCCUUU の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0649Aによって示された。

活性領域 1 4 はCGCGCCUCCCCGGCCCUUACCAGCCUAGACCUGUCUGACAAUCCUGGACUGGGCGAACGCGGACUGAUGGCGGCCU の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0714A およびSH0720A によって示された。

活性領域 1 5 はUCCAGAAUCUAGCGCUGCGCAACACAGGAUUGGAGACGCCCCACAG の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0809A によって示された。

活性領域 1 6 はCCCCACAGCCUAGACCUCAGCCACAACUCGCUGCGCGCCACCGUAAACCCUAGCGの配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチドSH0899A によって示さ

れた。

活性領域 17 は GACUGCCAGCCAAGCUCAGAGUGCUCGAUCUCAGCUGCAACAGACUGAACAGGGC の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチド SH1014A によって示された。

活性領域 18 は GCUGCCCGAGGUGGAUAACCUGACACUGGACGGGAUCCCUUCCU の配列の一部に相補的に結合する SH1074A、活性領域 19 は GUGUCGGGAACCCUGGUGCUGCUCC の配列の一部に相補的に結合するオリゴヌクレオチド SH1199A および SH1204A により示された。

実施例 15 コンセンサスオリゴヌクレオチドの設計と CD14 発現阻止活性測定

(1) コンセンサスオリゴヌクレオチドの設計

ヒト CD14 をコードする遺伝子とヒト以外の動物の CD14 をコードする遺伝子の両方に結合するようなオリゴヌクレオチド（以下、コンセンサスオリゴヌクレオチドと呼ぶ）を以下の方法で作成した。まず、結合領域として有効であると考えられる配列番号 1 の 93 番グアニンから 145 番ウリジンまでの領域に着目し、ヒトとマウスの配列を比較した。この領域中、実施例 8 および実施例 12 で強い活性を示した 103 番のウリジンから 137 番ウリジンまでの配列に相補的な 5 種類の 21mer のアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計したところ、ヒトとマウスで配列が一致しない塩基（図 10 中 X で記載した塩基）はすべて、シトシンもしくはウリジンのピリミジン置換であった。そこで、X で記載した塩基をピリミジン塩基と結合する塩基であるイノシンに置換したアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、実施例 3 に記載の方法で合成した。合成したコンセン

サスオリゴヌクレオチドを表6に示した。

表6

オリゴヌクレオチド	配 列	塩基長	修飾	配列番号
SU0103A-21mer	CICGCTCCATGGTCGITAIIIT	21mer	P=S	242
SU0104A-21mer	ICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	243
SU0105A-21mer	CICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	244
SU0106A-21mer	ICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	245
SU0107A-21mer	IIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	246
SU0108A-21mer	IIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	247
SU0109A-21mer	IIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	248
SU0110A-21mer	CIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	249
SU0111A-21mer	GCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	250
SU0112A-21mer	AGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	251
SU0113A-21mer	AAGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	252
SU0114A-21mer	CAAGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	253
SU0115A-21mer	ACAAGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	254
SU0116A-21mer	AACAAGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	255
SU0117A-21mer	CAACAAGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	256
SU0118A-21mer	GCAACAAGCIICICICGCTCCATGGTCGITAII	21mer	P=S	257

(2) コンセンサスオリゴヌクレオチドによるヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現阻害活性およびマウスTNF α 産生阻害活性の測定

実施例12記載のヒトCD14ルシフェラーゼ融合蛋白質を発現するHeLa組換え細胞によるCD14ルシフェラーゼ融合蛋白発現阻害活性を、SU0103A-21mer、SU0104A-21mer、SU0105A-21mer、SU0106A-21mer、SU0107A-21mer、SU0108A-21mer、SU0109A-21mer、SU0110A-21mer、SU0111A-21mer、SU0112A-21mer、SU0113A-21mer、SU0114A-21mer、SU0115A-21mer、SU0116A-21mer、SU0117A-21mer およびSU0118A-21mer で活性比較した。その結果を図10に示す。40%以上の阻止活性を示したコンセンサスオリゴヌクレオチドは、SU0103A-21mer、SU0104A-21mer、SU0105A-21mer、SU0106A-21mer、SU0107A-21mer、SU0108A-21mer、SU0109A-21mer であった。

次にSU0104A-21mer、SU0105A-21mer、SU0106A-21mer およびSU0108A-21mer についてマウスTNF α 産生阻害活性を測定した。測定は、J774A.1細胞の代わりにRAW264.7細胞を用い、実施例9の方法に準じて行い、培養上清中のTNF α は、マウスTNF α ELISA SYSTEM (アマシャム社製) で測定した。結果を図11に示す。

SU0104A-21mer、SU0105A-21mer、SU0106A-21mer およびSU0108A-21mer のマウスTNF α 産生抑制活性はそれぞれ24%、33%、54%、69%であった。またコントロールオリゴヌクレオチドは3%の阻害であった。この結果より、SU0104A-21mer、SU0105A-21mer、SU0106A-21mer、SU0108A-21mer は、マウスにもヒトにも作用を示すオリゴヌクレオチドであることが判った。

産業上の利用可能性

本発明により、ヒトCD14をコードする遺伝子の一部とハイブリダイズする配列を含むオリゴヌクレオチドが提供され、さらに、該オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容しうる担体を含む医薬組成物が提供される。これにより効果的に炎症性因子を抑制することができる。すなわち、ヒトCD14の発現を抑制するオリゴヌクレオチドは、CD14を介して生じる炎症性因子によって引き起こされる疾患、具体的には全身性炎症反応症候群、エンドトキシン血症およびショック、潰瘍性大腸炎、クローン病、自己免疫反応、アレルギー疾患、癌、移植片対宿主病、歯周病もしくは骨粗鬆症等の予防もしくは治療薬として使用することができる。

配列表

配列番号 : 1

配列の長さ : 1 3 5 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : m R N A

起源

生物名 : h u m a n

配列

```
GAAGAGUUCA CAAGUGUGAA GCCUGGAAGC CGCCGGGUGC CGCUGUGUAG GAAAGAAGCU   60
AAAGCACUUC CAGAGCCUGU CCGGAGCUCA GAGGUUCGGA AGACUUAUCG ACCAUGGAGC  120
GCGCGUCCUG CUUGUUGCUG CUGCUGCUGC CGCUGGUGCA CGUCUCUGCG ACCACGCCAG  180
AACCUUGUGA GCUGGACGAU GAAGAUUUCG GCUUGGUCUG CAACUUCUCC GAACCUCAGC  240
CCGACUGGUC CGAAGCCUUC CAGUGUGUGU CUGCAGUAGA GGUUGAGAUC CAUGCCGGCG   300
GUCUCAACCU AGAGCCGULU CUAAAGCGCG UCGAUGCGGA CGCCGACCCG CGGCAGU AUG   360
CUGACACGGU CAAGGCUCUC CCGUGCGGC GGCUCACAGU GGGAGCCGCA CAGGUCUCCUG  420
CUCAGCUACU GGUAGGCGCC CUGCGUGUGC UAGCGUACUC CCGCCUCAAG GAACUGACGC  480
UCGAGGACCU AAAGAUAAAC GGCACCAUGC CUCCGCUGCC UCUGGAAGCC ACAGGACUUG  540
CACUUUCCAG CUUGCGCCUA CGCAACGUGU CGUGGGCGAC AGGGCGUUCU UGGCUCGCCG  600
AGCUGCAGCA GUGGCUCAAG CCAGGCCUCA AGGUACUGAG CAUUGCCCAA GCACACUCGC  660
```

CUGCCUUUUC CUACGAACAG GUUCGCGCCU UCCCGGCCCCU UACCAGCCUA GACCUGUCUG 720
ACAAUCCUGG ACUGGGCGAA CGCGGACUGA UGGCGGCUCU CUGUCCCCAC AAGUCCCCGG 780
CCAUCCAGAA UCUAGCGCUG CGCAACACAG GAAUGGAGAC GCCCACAGGC GUGUGCGCCG 840
CACUGGCGGC GGCAGGUGUG CAGCCCCACA GCCUAGACCU CAGCCACAAC UCGCUGCGCG 900
CCACCGUAAA CCCUAGCGCU CCGAGAUGCA UGUGGUCCAG CGCCCUGAAC UCCCUCAAUC 960
UGUCGUUCGC UGGGCUGGAA CAGGUGCCUA AAGGACUGCC AGCCAAGCUC AGAGUGCUCG 1020
AUCUCAGCUG CAACAGACUG AACAGGGCGC CGCAGCCUGA CGAGCUGCCC GAGGUGGAUA 1080
ACCUGACACU GGACGGGAAU CCCUCCUGG UCCCUUGAAC UGCCCCUCCC CACGAGGGCU 1140
CAAUGAACUC CGGCGUGGUC CCAGCCUGUG CACGUUCGAC CCUGUCGGUG GGGGUGUCGG 1200
GAACCCUGGU GCUGCUCCAA GGGGCCCCGG GCUUUGCCUA AGAUCCAAGA CAGAAUAAUG 1260
AAUGGACUCA AACUGCCUUG GCUUCAGGGG AGUCCCGUCA GGACGUUGAG GACUUUUCGA 1320
CCAAUUCAAC CCUUUGCCCC ACCUUUAUUA A 1351

配列番号 : 2

配列の長さ : 1 5 7 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 2 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : G e n o m i c DNA

起源

生物名 : h u m a n

配列

CAGAATGACA TCCCAGGATT ACATAAACTG TCAGAGGCAG CCGAAGAGTT CACAAGTGTG 60
AAGCCTGGAA GCCGCCGGGT GCCGCTGTGT AGGAAAGAAG CTAAAGCACT TCCAGAGCCT 120
GTCCGGAGCT CAGAGGTTTC GAAGACTTAT CGACCATGGT GAGTGTAGGG TCTTGGGGTC 180
GAACGCGTGC CACTCGGGAG CCACAGGGGT TGGATGGGGC CTCCTAGACC TCTGCTCTCT 240
CCCCAGGAGC GCCCGTCCTG CTTGTTGCTG CTGCTGCTGC CGCTGGTGCA CGTCTCTGCG 300
ACCACGCCAG AACCTTGTGA GCTGGACGAT GAAGATTTCC GCTGCGTCTG CAACTTCTCC 360
GAACCTCAGC CCGACTGGTC CGAAGCCTTC CAGTGTGTGT CTGCAGTAGA GGTGGAGATC 420
CATGCCGGCG GTCTCAACCT AGAGCCGTTT CTAAAGCGCG TCGATGCGGA CGCCGACCCG 480
CGGCAGTATG CTGACACGGT CAAGGCTCTC CGCGTGCGGC GGCTCACAGT GGGAGCCGCA 540
CAGGTTCTTG CTCAGCTACT GGTAGGCGCC CTGCGTGTGC TAGCGTACTC CCGCCTCAAG 600
GAACTGACGC TCGAGGACCT AAAGATAACC GGCACCATGC CTCGCTGCC TCTGGAAGCC 660
ACAGGACTTG CACTTTCCAG CTTGCGCCTA CGCAACGTGT CGTGGGCGAC AGGGCGTTCT 720
TGGCTCGCCG AGCTGCAGCA GTGGCTCAAG CCAGGCCTCA AGGTACTGAG CATTGCCCAA 780
GCACACTCGC CTGCCTTTTC CTACGAACAG GTTCGCGCCT TCCCGGCCCT TACCAGCCTA 840
GACCTGTCTG ACAATCCTGG ACTGGGCGAA CGCGGACTGA TGGCGGCTCT CTGTCCCCAC 900
AAGTTCCCGG CCATCCAGAA TCTAGCGCTG CGCAACACAG GAATGGAGAC GCCACAGGC 960
GTGTGCGCCG CACTGGCGGC GGCAGGTGTG CAGCCCCACA GCCTAGACCT CAGCCACAAC 1020
TCGCTGCGCG CCACCGTAAA CCCTAGCGCT CCGAGATGCA TGTGGTCCAG CGCCCTGAAC 1080
TCCCTCAATC TGTCGTTCCG TGGGCTGGAA CAGGTGCCTA AAGGACTGCC AGCCAAGCTC 1140
AGAGTGCTCG ATCTCAGCTG CAACAGACTG AACAGGGCGC CGCAGCCTGA CGAGCTGCCC 1200
GAGGTGGATA ACCTGACACT GGACGGGAAT CCCTTCCTGG TCCCTGGAAC TGCCCTCCCC 1260
CACCAGGGCT CAATGAACTC CGGCGTGGTC CCAGCCTGTG CACGTTGAC CCTGTGGGTG 1320

GGGGTGTCCG GAACCCTGGT GCTGCTCCAA GGGGCCCCGG GCTTTGCCTA AGATCCAAGA 1380
CAGAATAATG AATGGACTCA AACTGCCTTG GCTTCAGGGG AGTCCCGTCA GGACGTTGAG 1440
GACTTTTTCGA CCAATTCAAC CCTTTGCCCC ACCTTTATTA AAATCTTAAA CAACGGTTCC 1500
GTGTCATTCA TTAAACAGAC CTTTATTGGA TGTCTGCTAT GTGCTGGGCA CAGTACTGGA 1560
TGGGGAATTC 1570

配列番号 : 3

配列の長さ : 1 4 4 7

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : mRNA

起源

生物名 : mouse

配列

CGAACAAGCC CGUGGAACCU GGAAGCCAGA GAACACCACC GCUGUAAAGG AAAGAAACUG 60
AAGCCUUUCU CGGAGCCUAG CUGGGCUGCU CAAACUUUCA GAAUCUACCG ACCAUGGAGC 120
GUGUGCUCUG CUGGUGCUG UUGCUCUGG UGCACGCCUC UCCCGCCCCA CCAGAGCCCU 180
GCGAGCUAGA CGAGGAAAGU UGUUCCUGCA ACUUCUCAGA UCCGAAGCCA GAUUGGUCCA 240
GCGCUUUCUA UUGUUUGGGG GCGGCAGAUG UGGAAUUGUA CGGCGGCGGC CGCAGCCUGG 300
AAUACCUUCU AAAGCGUGUG GACACGGAAG CAGAUUGGG GCAGUUCACU GAUAUUUAUCA 360
AGUCUCUGUC CUUAAAGCGG CUUACGGUGC GGGCCGCGCG GAUUCCUAGU CGGAUUCUUAU 420

UCGGAGCCCU GCGUGUGCUC GGGAUUCCG GCCUCCAGGA ACUGACUCUU GAAAAUCUCG 480
AGGUAACCGG CACCGCGCCG CCACCGCUUC UGGAAGCCAC CGGACCCGAU CUCAACAUCU 540
UGAACCUC CG CAACGUGUCG UGGGCAACAA GGAUGCCUG GCUCGCAGAA CUGCAGCAGU 600
GGCUAAAGCC UGGACUCAAG GUACUGAGUA UUGCCCAAGC ACACUCACUC AACUUUCCU 660
GCGAACAGGU CCGCGUCUUC CCUGCCCUCU CCACCUUAGA CCUGUCUGAC AAUCCUGAAU 720
UGGGCGAGAG AGGACUGAUC UCAGCCCUCU GUCCCCUAA GUUCCCGACC CUCCAAGUUU 780
UAGCGCUGCG UAACGCGGGG AUGGAGACGC CCAGCGGCGU GUGCUCUGCG CUGGCCGCAG 840
CAAGGGUACA GCUGCAAGGA CUAGACCUUA GUCACAAUUC ACUGCGGGAU GCUGCAGGCG 900
CUCCGAGUUG UGACUGGCCC AGUCAGCUAA ACUCGCUCAA UCUGUCUUUC ACUGGGCUGA 960
AGCAGGUACC UAAAGGGCUG CCAGCCAAGC UCAGCGUGCU GGAUCUCAGU UACAACAGGC 1020
UGGAUAGGAA CCCUAGCCCA GAUGAGCUGC CCCAAGUGGG GAACCUGUCA CUUAAAGGAA 1080
AUCCCUUUUU GGACUCUGAA UCCCACUCGG AGAAGUUUAA CUCUGGCGUA GUCACCGCCG 1140
GAGCUCCAUC AUCCAAGCA GUGGCCUUGU CAGGAACUCU GGCUUUGCUC CUAGGAGAUC 1200
GCCUCUUUGU UUAAGGAACA UUUGCAUCCU CCUGGUUUUC GAGGGUCCUC GUCAACGAU 1260
CCUCUGCUUU AAAUUUUAUA AAUUCUAAU CCACGAUGUA AGGAAAGAAA GGCAGUCAAG 1320
AUGGUUCAGU GGGUAAAAGC CAGCAAACU GACCCUCGAU UUAACCCUC AGGAUCCACA 1380
CGGAAGGGGA AAACUCACUC CUGAAAGUUG UCCAUCUGUG CUCACAAUA AAUUUUUU 1440
AAAAUA 1447

配列番号 : 4

配列の長さ : 2 4 0 4

配列の型 : 核酸

鎖の数：2本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：Genomic DNA

起源

生物名：mouse

配列

```
CCTAGCATTT GGGAGGCAGA GGCAGGAGGA AAATCATGCC TTTCAGGCTA GGCTAGATTG 60
GGTTACTAGA CTGAGATATC ATGGGGAGAA TGGAGAGGTA GAGAGTGGGA GAAGAATGAA 120
TTAATAAAGA ACTGAATAAG ATGGGAAGAA GGGAGAATTA TTTTTCATAT TAACTCTCAA 180
CTTTGAGCTT TATTCTCTGC CTGGAATCTA TAGATAAGTT CACAATCTTT CCACAAATGT 240
CCAATTACAT TCAAAGAAAA TCAAGAGCTG GATTTGAACG GTGGGAAATT GCTAGCAACT 300
AAGACTAGGG GAAATGGAGG TGAATCAATG GGAAGTGGCA ACAGAATAAT GATCTAAGGC 360
ACTAGGTGTG ATTCACTCTT TTCCTGTACG CACCAGACAA GTCCGGGGCT CATAGGTCAT 420
CCTCCTGGCA CAGAATGCCC TAATGCCACT CTGAATTCTT CCTGTTTTTC GTCCCTCCCT 480
AAAAAAGACT TCCTTGCAAT ATTTACTAGA AGTGAGTAGG GCTGTTAGGA GGAAGAGAAG 540
TGGAGACGCA ATTAGAATTC ACAGAGGAAG GGACAGGGTG ACACCCAGG ATTACATAAA 600
TTTACAGGGG CTGCCGAATT GGTCCAACAA GCCCCTGGAA CCTGGAAGCC AGAGAACACC 660
ATCGCTGTAA AGGAAAGAAA CTGAAGCTTT TCTCGGAGCC TATCTGGGCT GCTCAAACCT 720
TCAGAATCTA CCGACCATGG TGAGTCAGAC AGACTGTCTT GGGGTGGAAC TGGAGCCAAC 780
CTGAGGAATC TCAGGGTCTG GCAGGAGTCT CCCTGACCCC TACTTTCTCC TCAGGAGCGT 840
GTGCTTGGCT TGTGCTGTT GCTTCTGGTG CACGCCTCTC CCGCCCCACC AGAGCCCTGC 900
GAGCTAGACG AGGAAAGTTG TTCCTGCAAC TTCTCAGATC CGAAGCCAGA TTGGTCCAGC 960
```

GCTTTCAATT GTTTGGGGG GGCAGATGTG GAATTGTACG GCGGCGGCCG CAGCCTGGAA 1020
TACCTTCTAA AGCGTGTGGA CACGGAAGCA GATCTGGGGC AGTTCACTGA TATTATCAAG 1080
TCTCTGTCT TAAAGCGGCT TACGGTGCGG GCCGCGCGGA TTCCTAGTCG GATTCTATTC 1140
GGAGCCCTGC GTGTGCTCGG GATTTCCGGC CTCCAGGAAC TGA CTCTTGA AAATCTCGAG 1200
GTAACCGGCA CCGCGCCGCC ACCGCTTCTG GAAGCCACCG GACCCGATCT CAACATCTTG 1260
AACCTCCGCA ACGTGTCTG GGAACAAGG GATGCCTGGC TCGCAGAACT GCAGCAGTGG 1320
CTAAAGCCTG GACTCAAGGT ACTGAGTATT GCCCAAGCAC ACTCACTCAA CTTTTCCTGC 1380
GAACAGGTCC GCGTCTTCCC TGCCCTCTCC ACCTTAGACC TGTCTGACAA TCCTGAATTG 1440
GGCGAGAGAG GACTGATCTC AGCCCTCTGT CCCCTCAAGT TCCCGACCCT CCAAGTTTTA 1500
GCGCTGCGTA ACGCGGGGAT GGAGACGCCC AGCGGCGTGT GCTCTGCGCT GGCCGCAGCA 1560
AGGGTACAGC TGCAAGGACT AGACCTTAGT CACAATTCAC TCGGGGATGC TGCAGGCGCT 1620
CCGAGTTGTG ACTGGCCCAG TCAGCTAAAC TCGCTCAATC TGTCTTTCAC TGGGCTGAAG 1680
CAGGTACCTA AAGGGCTGCC AGCCAAGCTC AGCGTGCTGG ATCTCAGTTA CAACAGGCTG 1740
GATAGGAACC CTAGCCCAGA TGAGCTGCCC CAAGTGGGGA ACCTGTCACT TAAAGGAAAT 1800
CCCTTTTTTG ACTCTGAATC CCACTCGGAG AAGTTTAACT CTGGCGTAGT CACCGCCGGA 1860
GCTCCATCAT CCCAAGCAGT GGCCTTGTC GGA ACTCTGG CTTTGCTCCT AGGAGATCGC 1920
CTCTTTGTTT AAGGAACATT TGCATCCTCC TGTTTTCTGA GGGTCCTCGT CAACGAATCC 1980
TCTGCTTTAA ATTTATTAAA ATCTTAATCC ACGATGTAAG GAAAGAAAGG CAGTCAAGAT 2040
GTTTCACTGG GTAAAAGCCA GCAA ACTTGA CCCCTGATTT TAACCCTCAG GATCCACACG 2100
GAAGGGGAAA ACTCACTCCT GAAAGTTGTC CATCTGTGCT CACAAATAAA TATTTTTTAA 2160
AATAACAATG TGTTTGTTGG TTTTGTTTTT GTTTGGGTTT TGTTGTGGTT TTGTTTGTTC 2220
TGTTTTGTTT TTGAGACAGT CTGGCTATGT ATCCTTGGCT GGCCTCAAAC TCATAAAGAT 2280

CAAGATCGGC CTGCCTCTAC CTCCAAATGC TCTGGTTAAA GGGATGTGCC TCCATGCCCCA 2340
GTTGAAGTCA TCCTGAACCA CGAGTCCAGG CCACTCACTC TTTACTAAGA TCTTTACTAA 2400
GTAT 2404

配列番号 : 5

配列の長さ : 32

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ACGCGTCGAC GAGTTCACAA GTGTGAAGCC TG 32

配列番号 : 6

配列の長さ : 32

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ACATGCATGC TTAATAAAGG TGGGGCAAAG GG 32

配列番号 : 7

配列の長さ : 33

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CCCAAGCTTA AGTGTGAAGC CTGAAGCCGC CGG 33

配列番号 : 8

配列の長さ : 44

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ATGGCGCCGC GCCTTTCCTT ATGTTTTTGG CGTCTTCCAG TTGG 44

配列番号 : 9

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CGGCTTCCAG GCTTCACACT 20

配列番号：1 0

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CGGCACCCGG CGGCTTCCAG 20

配列番号：1 1

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TCCTACACAG CGGCACCCGG 20

配列番号：1 2

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TTCTTTCCTA CACAGCGGCA 20

配列番号：1 3

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TTAGCTTCTT TCCTACACAG 20

配列番号：1 4

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GTGCTTTAGC TTCTTTCCTA 20

配列番号：1 5

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TGGAAGTGCT TTAGCTTCTT 20

配列番号：1 6

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GGACAGGCTC TGGAAGTGCT 20

配列番号 : 1 7

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TCTGAGCTCC GGACAGGCTC 20

12/14

配列番号 : 1 8

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CTTCCGAACC TCTGAGCTCC 20

配列番号 : 1 9

配列の長さ : 2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GTCGATAAGT CTTCCGAACC 20

配列番号：20

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

ATGCTCGATA AGTCTTCCGA 20

配列番号：21

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TCCATGGTCG ATAAGTCTTC 20

配列番号 : 2 2

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CGCTCCATGG TCGATAAGTC 20

配列番号 : 2 3

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CGCGCTCCAT GGTGATAAG 20

配列番号 : 2 4

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCGCGCTCCA TGGTCGATAA 20

配列番号 : 2 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CGCGCGCTCC ATGGTCGATA 20

配列番号 : 2 6

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

ACGCGCGCTC CATGGTCGAT 20

配列番号：27

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GACGCGCGCT CCATGGTCGA 20

配列番号：28

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GGACGCGCGC TCCATGGTCG 20

配列番号：29

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GCAGGACGCG CGCTCCATGG 20

配列番号：30

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AAGCAGGACG CGCGCTCCAT 20

配列番号：31

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

ACAAGCAGGA CGCGCGCTCC 20

配列番号：3 2

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AACAAGCAGG ACGCGCGCTC 20

配列番号：3 3

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CAACAAGCAG GACGCGCGCT 20

配列番号 : 3 4

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AGCAACAAGC AGGACGCGCG 20

配列番号 : 3 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCAGCAACAA GCAGGACGCC 20

配列番号 : 3 6

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CAGCAGCAAC AAGCAGGACG 20

配列番号：37

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AGCAGCAGCA ACAAGCAGGA 20

配列番号：38

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TCTTGGATCT TAGGCAAAGC 20

配列番号：39

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CATTATTCTG TCTTGGATCT 20

配列番号：40

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CAGTTTGAGT CCATTCATTA 20

配列番号 : 4 1

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AGGCAGTTTG AGTCCATTCA 20

配列番号 : 4 2

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CAAGGCAGTT TGAGTCCATT 20

配列番号 : 4 3

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CCAAGGCAGT TTGAGTCCAT 20

配列番号：44

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GCCAAGGCAG TTTGAGTCCA 20

配列番号：45

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AGCCAAGGCA GTTTGAGTCC 20

配列番号 : 4 6

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

AAGCCAAGGC AGTTTGACTC 20

配列番号 : 4 7

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GAAGCCAAGG CAGTTTGACT 20

配列番号 : 4 8

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TGAAGCCAAG GCAGTTTGAG 20

配列番号：49

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CTGAAGCCAA GGCAGTTTGA 20

配列番号：50

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CCTGAAGCCA AGGCAGTTTG 20

配列番号：5 1

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CCCTGAAGCC AAGGCAGTTT 20

配列番号：5 2

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CCCCTGAAGC CAAGGCAGTT 20

配列番号：5 3

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CTCCCCTGAA GCCAAGGCAG 20

配列番号：54

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GGACTCCCCT GAAGCCAAGG 20

配列番号：55

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TGACGGGACT CCCCTGAAGC 20

配列番号 : 5 6

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CTCAACGTCC TGACGGGACT 20

配列番号 : 5 7

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TCGAAAAGTC CTCAACGTCC 20

配列番号 : 5 8

配列の長さ : 2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GTTGAATTGG TCGAAAAGTC 20

配列番号：59

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TAATAAAGGT GGGGCAAAGC 20

配列番号：60

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CGGCTTCCAG GCTTCACACT 20

配列番号 : 6 1

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CGGCACCCGG CGGCTTCCAG 20

配列番号 : 6 2

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TCCTACACAG CGGCACCCGG 20

配列番号 : 6 3

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TTAGCTTCTT TCCTACACAG 20

配列番号 : 6 4

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TGGAAGTGCT TTAGCTTCTT 20

配列番号 : 6 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GGACAGGCTC TGGAAGTGCT 20

配列番号：66

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TCTGAGCTCC GGACAGGCTC 20

配列番号：67

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CTTCCGAACC TCTGAGCTCC 20

配列番号 : 6 8

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GTCGATAAGT CTTCCGAACC 20

配列番号 : 6 9

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ATGGTCGATA AGTCTTCCGA 20

配列番号 : 7 0

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

TCCATGGTCG ATAAGTCTTC 20

配列番号：7 1

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CGCTCCATGG TCGATAAGTC 20

配列番号：7 2

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GCGCTCCATG GTCGATAAGT 20

配列番号 : 7 3

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CGCGCTCCAT GGTCCGATAAG 20

配列番号 : 7 4

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCGCGCTCCA TGGTCCGATAA 20

配列番号 : 7 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CGCGCGCTCC ATGGTCGATA 20

配列番号：76

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

ACGCGCGCTC CATGGTCGAT 20

配列番号：77

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GACGCGCGCT CCATGGTCGA 20

配列番号 : 7 8

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GGACGCGCGC TCCATGGTCG 20

配列番号 : 7 9

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AGGACGCGCG CTCCATGGTC 20

配列番号 : 8 0

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CAGGACGCGC GCTCCATGGT 20

配列番号 : 8 1

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCAGGACGCG CGCTCCATGG 20

配列番号 : 8 2

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AGCAGGACGC GCGCTCCATG 20

配列番号：83

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AAGCAGGACG CGCGCTCCAT 20

配列番号：84

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CAACAAGCAG GACGCGCGCT 20

配列番号： 8 5

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CATGGTCGAT AAGTC 15

配列番号： 8 6

配列の長さ： 1 8

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CTCCATGCTC GATAAGTC 18

配列番号： 8 7

配列の長さ： 1 9

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GCTCCATGGT CGATAAGTC 19

配列番号：88

配列の長さ：21

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

GGCTCCATG GTCGATAAGT C 21

配列番号：89

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CGCGCTCCAT GGTCGATAAG TC 22

配列番号 : 9 0

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ACGCGCGCTC CATGGTCGAT AAGTC 25

配列番号 : 9 1

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CATGGTCGGT AGATTCTGAA 20

配列番号 : 9 2

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CACACGCTCC ATGGTCGGTA GATTC 25

配列番号 : 9 3

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCACACGCTC CATGGTCGGT AGATT 25

配列番号 : 9 4

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AGCACACGCT CCATGGTCGG TAGAT 25

配列番号：9 5

配列の長さ：2 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AAGCACACGC TCCATGGTCG GTAGA 25

配列番号：9 6

配列の長さ：2 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

CAAGCACACG CTCCATGGTC GGTAG 25

配列番号 : 9 7

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CCAAGCACAC GCTCCATGGT CGGTA 25

配列番号 : 9 8

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCCAAGCACA CGCTCCATGG TCGGT 25

配列番号 : 9 9

配列の長さ : 2 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

AAGCCAAGCA CACGCTCCAT GGTCG 25

配列番号：100

配列の長さ：25

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸 合成DNA

配列

ACAAGCCAAG CACACGCTCC ATGGT 25

配列番号：101

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GAACCTCTGA GCTCC 15

配列番号：1 0 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TCCATGGTCG ATAAG 15

配列番号：1 0 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGACGCGCGC TCCAT 15

配列番号：1 0 4

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGCAGCAGCA GCAAC 15

配列番号：105

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CACCAGCGGC AGCAG 15

配列番号：106

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAGAGACGTG CACCA 15

配列番号 : 1 0 7

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GGCGTGGTCG CAGAG 15

配列番号 : 1 0 8

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

ACAAGGTTCT GCGT 15

配列番号 : 1 0 9

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CGTCCAGCTC ACAAG 15

配列番号 : 1 1 0

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AAATCTTCAT CGTCC 15

配列番号 : 1 1 1

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GACGCAGCGG AAATC 15

配列番号：1 1 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGAAGTTGCA GACGC 15

配列番号：1 1 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGAGGTTCCG AGAAG 15

配列番号 : 1 1 4

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CCAGTCGGGC TGAGG 15

配列番号 : 1 1 5

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AGGCTTCGGA CCACT 15

配列番号 : 1 1 6

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

ACACACTGGA AGGCT 15

配列番号：117

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TACTGCAGAC ACACA 15

配列番号：118

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TCTCCACCTC TACTG 15

配列番号 : 1 1 9

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CCGGCATGGA TCTCC 15

配列番号 : 1 2 0

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GTTGAGACCG CCGGC 15

配列番号 : 1 2 1

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

ACGGCTCTAG GTTGA 15

配列番号 : 1 2 2

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CGCTTTAGAA ACGGC 15

配列番号 : 1 2 3

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCATCGACG CGCTT 15

配列番号：1 2 4

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGTCGGCGTC CGCAT 15

配列番号：1 2 5

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TACTGCCGCG GGTCC 15

配列番号： 1 2 6

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGTGTCTAGCA TACTG 15

配列番号： 1 2 7

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GAGCCTTGAC CGTGT 15

配列番号： 1 2 8

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCACGCGGA GAGCC 15

配列番号：1 2 9

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGTGAGCCGC CGCAC 15

配列番号：1 3 0

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGGCTCCCAC TGTGA 15

配列番号 : 1 3 1

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GGAACCTGTG CGGCT 15

配列番号 : 1 3 2

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

TAGCTGAGCA GGAAC 15

配列番号 : 1 3 3

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCCTACCAG TAGCT 15

配列番号：134

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

ACACGCAGGG CGCCT 15

配列番号：135

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTACGCTAGC ACACG 15

配列番号：1 3 6

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGAGGCGGGA GTACG 15

配列番号：1 3 7

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTCAGTTCCT TGAGG 15

配列番号 : 1 3 8

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GTCCTCGAGC GTCAG 15

配列番号 : 1 3 9

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

TTATCTTTAG GTCCT 15

配列番号 : 1 4 0

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

ATGGTGCCGG TTATC 15

配列番号：1 4 1

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAGCGGAGGC ATGGT 15

配列番号：1 4 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CTTCCAGAGG CAGCG 15

配列番号：1 4 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGTCCTGTGG CTTCC 15

配列番号：1 4 4

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGAAAGTGCA AGTCC 15

配列番号：1 4 5

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGCGCAAGCT GGAAA 15

配列番号：1 4 6

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

ACGTTGCGTA GGCGC 15

配列番号：1 4 7

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCCCACGAC ACGTT 15

配列番号 : 1 4 8

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AACGCCCTGT CGCCC 15

配列番号 : 1 4 9

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GCGAGCCAAG AACGC 15

配列番号 : 1 5 0

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CTGCAGCTCG GCGAG 15

配列番号 : 1 5 1

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

TGAGCCACTG CTGCA 15

配列番号 : 1 5 2

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGGCCTGGCT TGAGC 15

配列番号：1 5 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAGTACCTTG AGGCC 15

配列番号：1 5 4

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGGCAATGCT CAGTA 15

配列番号 : 1 5 5

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GAGTGTGCTT GGGCA 15

配列番号 : 1 5 6

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AAAGGCAGGC GAGTG 15

配列番号 : 1 5 7

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTTCGTAGGA AAAGG 15

配列番号：1 5 8

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GCGCGAACCT GTTCG 15

配列番号：1 5 9

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGCCGGGAAG GCGCG 15

配列番号 : 1 6 0

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GGCTGGTAAG GGCCG 15

配列番号 : 1 6 1

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GACAGGTCTA GGCTG 15

配列番号 : 1 6 2

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGGATTGTCA GACAG 15

配列番号：163

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCCCAGTCC AGGAT 15

配列番号：164

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGTCCGCGTT CGCCC 15

配列番号 : 1 6 5

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AGCCGCCATC AGTCC 15

配列番号 : 1 6 6

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GGGGACAGAG AGCCG 15

配列番号 : 1 6 7

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGGAACTTGT GGGGA 15

配列番号：168

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CTGGATGGCC GGGAA 15

配列番号：169

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GCGCTAGATT CTGGA 15

配列番号：1 7 0

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTGTTGCCG AGCGCT 15

配列番号：1 7 1

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CTCCATTCCT GTGTT 15

配列番号 : 1 7 2

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CTGTGGGCGT CTCCA 15

配列番号 : 1 7 3

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GCGCACACGC CTGTC 15

配列番号 : 1 7 4

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCCAGTGCG GCGCA 15

配列番号：1 7 5

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CACCTGCCGC CGCCA 15

配列番号：1 7 6

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGGGGCTGCA CACCT 15

配列番号：1 7 7

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTCTAGGCTG TGGGG 15

配列番号：1 7 8

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGTGGCTGAG GTCTA 15

配列番号：1 7 9

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCAGCGAGT TGTGG 15

配列番号：180

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TACGGTGGCG CGCAG 15

配列番号：181

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCTAGGGTT TACGG 15

配列番号：1 8 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CATCTCGGAG CGCTA 15

配列番号：1 8 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGACCACATG CATCT 15

配列番号：1 8 4

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TCAGGGCGCT GGACC 15

配列番号：185

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TTGAGGGAGT TCAGG 15

配列番号：186

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GAACGACAGA TTGAG 15

配列番号：1 8 7

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CCAGCCCAGC GAACG 15

配列番号：1 8 8

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGCACCTGTT CCAGC 15

配列番号： 1 8 9

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAGTCCTTTA GGCAC 15

配列番号： 1 9 0

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GCTTGGCTGG CAGTC 15

配列番号： 1 9 1

配列の長さ： 1 5

配列の型：核酸

鎖の数： 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGCACTCTGA GCTTG 15

配列番号：1 9 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GCTGAGATCG AGCAC 15

配列番号：1 9 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTCTGTTGCA GCTGA 15

配列番号 : 1 9 4

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GCCCTGTTCA GTCTG 15

配列番号 : 1 9 5

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GCAGCTCGTC AGGCT 15

配列番号 : 1 9 6

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TCCACCTCGG GCAGC 15

配列番号：197

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGTCAGGTTA TCCAC 15

配列番号：198

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TCCCGTCCAG TGTCA 15

配列番号 : 1 9 9

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AGGAAGGGAT TCCCG 15

配列番号 : 2 0 0

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

TCCAGGGACC AGGAA 15

配列番号 : 2 0 1

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGAGGGCAGT TCCAG 15

配列番号：202

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CCCTCGTGGG GGAGG 15

配列番号：203

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GTTCATTGAG CCCTC 15

配列番号：2 0 4

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CCACGCCGGA GTTCA 15

配列番号：2 0 5

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAGGCTGGGA CCACG 15

配列番号：206

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGAACGTGCA CAGGC 15

配列番号：207

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CCGACAGGCT CGAAC 15

配列番号：208

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GACACCCCCA CCGAC 15

配列番号：209

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAGGGTTCCC GACAC 15

配列番号：210

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGAGCAGCAC CAGGG 15

配列番号：2 1 1

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGGGCCCCTT GGAGC 15

配列番号：2 1 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGCAAAGCCC CGGGC 15

配列番号：2 1 3

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TTGGATCTTA GGCAA 15

配列番号：2 1 4

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TTATTCTGTC TTGGA 15

配列番号：2 1 5

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGTCCATTCA TTATT 15

配列番号：2 1 6

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AGGCAGTTTG AGTCC 15

配列番号：2 1 7

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CCTGAAGCCA AGGCA 15

配列番号：2 1 8

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

ACGGGACTCC CCTGA 15

配列番号：219

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CAACGTCCTG ACGGG 15

配列番号：220

配列の長さ：15

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GAAAAGTCCT CAACG 15

配列番号：2 2 1

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TGAATTGGTC GAAAA 15

配列番号：2 2 2

配列の長さ：1 5

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGCAAAGGCT TGAAT 15

配列番号 : 2 2 3

配列の長さ : 1 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

ATAAAGGTGG GGCAA 15

配列番号 : 2 2 4

配列の長さ : 3 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

GCAGGACCGG CGCTCCATGG TCGATAAGTC 30

配列番号 : 2 2 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TTCATCGTCC AGCTCACAAG 20

配列番号：2 2 6

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GCGTCCGCAT CGACGCGCTT 20

配列番号：2 2 7

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CTGTGCGGCT CCCACTGTGA 20

配列番号 : 2 2 8

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CGGGAGTACG CTAGCACACG 20

配列番号 : 2 2 9

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CAGTTCCTTG AGGCGGGAGT 20

配列番号 : 2 3 0

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGTCCTCGAG CGTCAGTTCC 20

配列番号：2 3 1

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AAGCTGGAAA GTGCAAGTCC 20

配列番号：2 3 2

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

AAAGGCAGGC GAGTGTGCTT 20

配列番号 : 2 3 3

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

AGTCCAGGAT TGTCAGACAG 20

配列番号 : 2 3 4

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

TCGCCCAGTC CAGGATTGTC 20

配列番号 : 2 3 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CTGTGGGCGT CTCCATTCCT 20

配列番号 : 2 3 6

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸

配列

CTGAGGTCTA GGCTGTGGG 20

配列番号 : 2 3 7

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1 本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CGCTAGGGTT TACGGTGGCG 20

配列番号：2 3 8

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TTGCAGCTGA GATCGAGCAC 20

配列番号：2 3 9

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

TCCAGTGTCA GGTATCCAC 20

配列番号：2 4 0

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

GGAGCAGCAC CAGGGTTCCC 20

配列番号：2 4 1

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CCCTTGGAGC AGCACCAGGG 20

配列番号：2 4 2

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 iはイノシンを表す

配列

CiCGCTCCAT GGTCGiTAii T 21

配列番号：2 4 3

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 iはイノシンを表す

配列

iCiCGCTCCA TGGTCGiTAi i 21

配列番号：2 4 4

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

CiCiCGCTCC ATGGTCGiTA i 21

配列番号：2 4 5

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

iCiCiCGCTC CATGGTCGiT A 21

配列番号：2 4 6

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 iはイノシンを表す

配列

iiCiCiCGCT CCATGGTCGi T 21

配列番号：2 4 7

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 iはイノシンを表す

配列

iiCiCiCGC TCCATGGTCG i 21

配列番号：2 4 8

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

iiiiCiCiCG CTCCATGGTC G 21

配列番号：2 4 9

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

CiiiiCiCiC GCTCCATGCT C 21

配列番号：2 5 0

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

GCiiiiCiCi CGCTCCATGG T 21

配列番号：251

配列の長さ：21

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

AGCiiiiCiC iCGCTCCATG G 21

配列番号：252

配列の長さ：21

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

AAGCiiiiCi CiCGCTCCAT G 21

配列番号：2 5 3

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

CAAGCiiiiC iCiCGCTCCA T 21

配列番号：2 5 4

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

ACAAGCiiii CiCiCGCTCC A 21

配列番号：2 5 5

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

AACAAGCiii iCiCiCGCTC C 21

配列番号：2 5 6

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

CAACAAGCii iiciciCGCT C 21

配列番号：2 5 7

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列の特徴

他の情報 i はイノシンを表す

配列

GCAACAAGCi iiiiiciciCGC T 21

配列番号：2 5 8

配列の長さ：2 1

配列の型：核酸

鎖の数：1 本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸

配列

CACACGCTCC ATGGTCGGTA G 21

請求の範囲

1. ヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド。
2. ヒトCD14をコードする遺伝子の少なくとも一部と相補的な配列を含む請求項1に記載のオリゴヌクレオチド。
3. ヒトCD14 mRNAの5' 非翻訳領域、翻訳開始領域、翻訳領域または3' 非翻訳領域のそれぞれまたは少なくともその一部と相補的な配列を少なくとも1つ含む請求項1または2に記載のオリゴヌクレオチド。
4. 配列番号1の塩基配列の
 - (1) 塩基位置23番のシトシンから62番のアデニンまでの40塩基の塩基配列
 - (2) 塩基位置93番のグアニンから131番のシトシンまでの39塩基の塩基配列
 - (3) 塩基位置117番のグアニンから145番のウリジンまでの29塩基の塩基配列
 - (4) 塩基位置1241番のアデニンから1280番のグアニンまでの40塩基の塩基配列
 - (5) 塩基位置1264番のグアニンから1285番のシトシンまでの22塩基の塩基配列
 - (6) 塩基位置1267番のシトシンから1320番のアデニンまでの54塩基の塩基配列

(7) 塩基位置 1 3 0 1 番のグアニンから 1 3 5 0 番のアデニンまでの 5 0 塩基の塩基配列

(8) 塩基位置 1 8 4 番のシトシンから 2 0 3 番のアデニンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(9) 塩基位置 3 2 4 番のアデニンから 3 4 3 番のシトシンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(10) 塩基位置 3 9 4 番のウリジンから 4 1 3 番のグアニンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(11) 塩基位置 4 4 4 番のシトシンから 4 8 9 番のシトシンまでの 4 6 塩基の塩基配列

(12) 塩基位置 5 3 4 番のグアニンから 5 5 3 番のウリジンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(13) 塩基位置 6 4 4 番のウリジンから 6 6 8 番のウリジンまでの 2 5 塩基の塩基配列

(14) 塩基位置 6 8 4 番のシトシンから 7 5 8 番のウリジンまでの 7 5 塩基の塩基配列

(15) 塩基位置 7 9 4 番のアデニンから 8 2 8 番のグアニンまでの 3 5 塩基の塩基配列

(16) 塩基位置 8 6 4 番のシトシンから 9 1 8 番のグアニンまでの 5 5 塩基の塩基配列

(17) 塩基位置 9 9 4 番のグアニンから 1 0 4 8 番のシトシンまでの 5 5 塩基の塩基配列

(18)塩基位置 1 0 6 4 番のグアニンから 1 1 0 8 番のウリジンまでの 4 5 塩基の塩基配列、および

(19)塩基位置 1 1 9 4 番のグアニンから 1 2 2 3 番のグアニンまでの 3 0 塩基の塩基配列塩基

からなる群から選ばれるいずれか 1 つの塩基配列とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、またはいずれか 1 つの塩基配列の少なくとも一部とハイブリダイズする請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチド。

5. 配列番号 1 の塩基配列の

(1) 塩基位置 2 3 番のシトシンから 6 2 番のアデニンまでの 4 0 塩基の塩基配列

(2) 塩基位置 9 3 番のグアニンから 1 3 1 番のシトシンまでの 3 9 塩基の塩基配列

(3) 塩基位置 1 1 7 番のグアニンから 1 4 5 番のウリジンまでの 2 9 塩基の塩基配列

(4) 塩基位置 1 2 4 1 番のアデニンから 1 2 8 0 番のグアニンまでの 4 0 塩基の塩基配列

(5) 塩基位置 1 2 6 4 番のグアニンから 1 2 8 5 番のシトシンまでの 2 2 塩基の塩基配列

(6) 塩基位置 1 2 6 7 番のシトシンから 1 3 2 0 番のアデニンまでの 5 4 塩基の塩基配列

(7) 塩基位置 1 3 0 1 番のグアニンから 1 3 5 0 番のアデニンまでの 5 0 塩基の塩基配列

(8) 塩基位置 1 8 4 番のシトシンから 2 0 3 番のアデニンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(9) 塩基位置 3 2 4 番のアデニンから 3 4 3 番のシトシンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(10) 塩基位置 3 9 4 番のウリジンから 4 1 3 番のグアニンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(11) 塩基位置 4 4 4 番のシトシンから 4 8 9 番のシトシンまでの 4 6 塩基の塩基配列

(12) 塩基位置 5 3 4 番のグアニンから 5 5 3 番のウリジンまでの 2 0 塩基の塩基配列

(13) 塩基位置 6 4 4 番のウリジンから 6 6 8 番のウリジンまでの 2 5 塩基の塩基配列

(14) 塩基位置 6 8 4 番のシトシンから 7 5 8 番のウリジンまでの 7 5 塩基の塩基配列

(15) 塩基位置 7 9 4 番のアデニンから 8 2 8 番のグアニンまでの 3 5 塩基の塩基配列

(16) 塩基位置 8 6 4 番のシトシンから 9 1 8 番のグアニンまでの 5 5 塩基の塩基配列

(17) 塩基位置 9 9 4 番のグアニンから 1 0 4 8 番のシトシンまでの 5 5 塩基の塩基配列

(18) 塩基位置 1 0 6 4 番のグアニンから 1 1 0 8 番のウリジンまでの 4 5 塩基の塩基配列、および

(19)塩基位置 1 1 9 4 番のグアニンから 1 2 2 3 番のグアニンまでの 3 0 塩基の塩基配列塩基

からなる群から選ばれるいずれか 1 つの塩基配列と相補的な塩基配列、またはいずれか 1 つの塩基配列の少なくとも一部に相補的な塩基配列を有する請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチド。

6. 請求項 4 に記載の塩基配列のうち、(1), (2), (4), (5), (7), (8), (11), (16), (19) より選ばれるいずれか 1 つの塩基配列とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、または (1), (2), (4), (5), (7), (8), (11), (16), (19) より選ばれるいずれか 1 つの塩基配列の少なくとも一部とハイブリダイズする請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチド。

7. 請求項 5 に記載の塩基配列のうち、(1), (2), (4), (5), (7), (8), (11), (16), (19) より選ばれるいずれか 1 つの塩基配列と相補的な塩基配列、または (1), (2), (4), (5), (7), (8), (11), (16), (19) より選ばれるいずれか 1 つの塩基配列の少なくとも一部に相補的な塩基配列を有する請求項 5 に記載のオリゴヌクレオチド。

8. ヒト CD 1 4 の発現を抑制しうる請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチド。

9. 翻訳阻害実験でヒト CD 1 4 の発現を 3 0 % 以上抑制しうる請求項 8 に記載のオリゴヌクレオチド。

1 0. RNaseH 切断実験でヒト CD 1 4 の mRNA との結合活性がスコアー 1 以上

である請求項 8 に記載のオリゴヌクレオチド

1 1. 塩基数が 1 0 ～ 5 0 のいずれかである請求項 1 ～ 1 0 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチド。

1 2. 塩基数が 1 5 ～ 3 0 のいずれかである請求項 1 1 に記載のオリゴヌクレオチド。

1 3. ヌクレオチド間の結合基の少なくとも 1 つがイオウ原子を含む請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチド。

1 4. 配列番号 1 0, 1 1, 1 2, 1 3, 1 6, 1 9, 2 0, 2 1, 2 2, 2 3, 2 4, 2 5, 2 6, 2 7, 2 8, 2 9, 3 2, 3 3, 3 4, 3 5, 3 6, 3 7, 3 9, 4 0, 4 1, 4 2, 4 5, 4 6, 4 7, 4 8, 4 9, 5 0, 5 1, 5 2, 5 3, 5 4, 5 5, 5 6, 5 7, 5 8, 5 9, 6 1, 6 2, 6 3, 6 4, 7 0, 7 1, 7 2, 7 3, 7 4, 7 5, 7 6, 7 7, 7 8, 7 9, 8 1, 8 3, 8 5, 8 6, 8 7, 8 8, 8 9, 9 0, 1 0 2, 1 0 3, 1 0 9, 1 2 3, 1 2 4, 1 2 5, 1 3 0, 1 3 5, 1 3 6, 1 3 7, 1 3 8, 1 4 4, 1 5 5, 1 5 6, 1 5 9, 1 6 0, 1 6 1, 1 6 2, 1 6 3, 1 6 4, 1 6 5, 1 7 0, 1 7 1, 1 7 2, 1 7 7, 1 7 8, 1 7 9, 1 8 0, 1 8 1, 1 9 0, 1 9 1, 1 9 2, 1 9 3, 1 9 4, 1 9 6, 1 9 7, 1 9 8, 1 9 9, 2 0 9, 2 1 0, 2 1 5, 2 1 6, 2 2 0, 2 2 1, 2 2 4, 2 2 5, 2 2 6, 2 2 7, 2 2 8, 2 2 9, 2 3 0, 2 3 1, 2 3 2, 2 3 3, 2 3 4, 2 3 5, 2 3 6, 2 3 7, 2 3 8, 2 3 9, 2 4 0, 2 4 1, 2 4 2, 2 4 3, 2 4 4, 2 4 5, 2 4 6, 2 4 7, 2 4 8 からなる群より選ばれる少なくとも 1 つの塩基配列を含み、3 0 塩基以下の塩基からなるオリゴヌクレオチド。

15. ヒト以外の動物のCD14をコードする遺伝子にもハイブリダイズし得る、請求項1ないし14に記載のオリゴヌクレオチド。

16. ヒト以外の動物がマウスおよび／またはサルである請求項15に記載のオリゴヌクレオチド。

17. 配列番号1の塩基配列の

(1) 塩基位置103番のアデニンから131番のシトシンまでの29塩基の塩基配列

(2) 塩基位置184番のシトシンから203番のアデニンまでの20塩基の塩基配列

(3) 塩基位置324番のアデニンから343番のシトシンまでの20塩基の塩基配列

(4) 塩基位置444番のシトシンから489番のシトシンまでの46塩基の塩基配列

(5) 塩基位置684番のシトシンから758番のウリジンまでの75塩基の塩基配列

(6) 塩基位置794番のアデニンから828番のグアニンまでの35塩基の塩基配列

(7) 塩基位置864番のシトシンから908番のアデニンまでの45塩基の塩基配列

(8) 塩基位置994番のグアニンから1046番のグアニンまでの53塩基の塩基配列

(9) 塩基位置1064番のグアニンから1108番のウリジンまでの45塩

基の塩基配列

からなる群から選ばれるいずれか 1 つの塩基配列と相補的な塩基配列において、
またはいずれか 1 つの塩基配列の少なくとも一部と相補的な塩基配列において、
任意の 1 つ以上の塩基がユニバーサルベースに置換された塩基配列を有する請求
項 15 または 16 いずれかに記載のオリゴヌクレオチド。

18. 請求項 1～17 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドおよび必要に応じて
薬学的に許容しうる担体を含む医薬組成物。

19. ヒト CD14 を介して生じる炎症性因子によって引き起こされる疾患を治
療するための請求項 18 に記載の医薬組成物。

20. 前記疾患が敗血症もしくはエンドトキシン血症、または敗血症性ショック
もしくはエンドトキシンショックである請求項 19 に記載の医薬組成物。

21. ヒト CD14 をコードする遺伝子に結合し、ヒト CD14 の発現を抑制し
うるオリゴヌクレオチドを有効成分とする、敗血症またはエンドトキシン血症、
または敗血症性ショックまたはエンドトキシンショックの予防／治療に使用する
医薬組成物。

22. 請求項 1～17 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドおよび必要に応じて
薬学的に許容しうる担体を投与するヒト CD14 を介して生じる炎症性因子に
よって引き起こされる疾患の予防／治療方法。

FIG. 1

ヒトCD14アンチセンスの非翻訳領域および翻訳領域における翻訳阻害活性

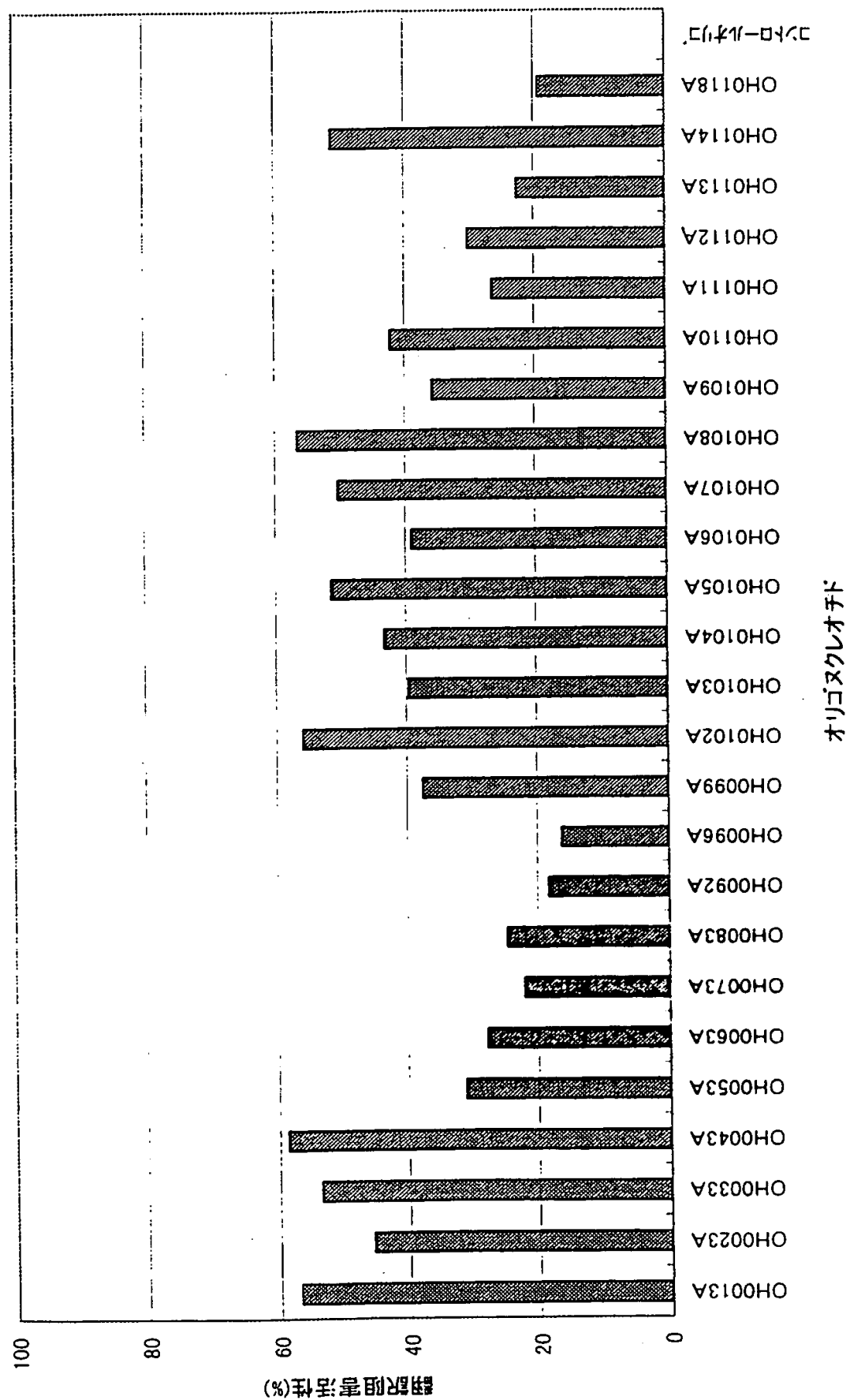
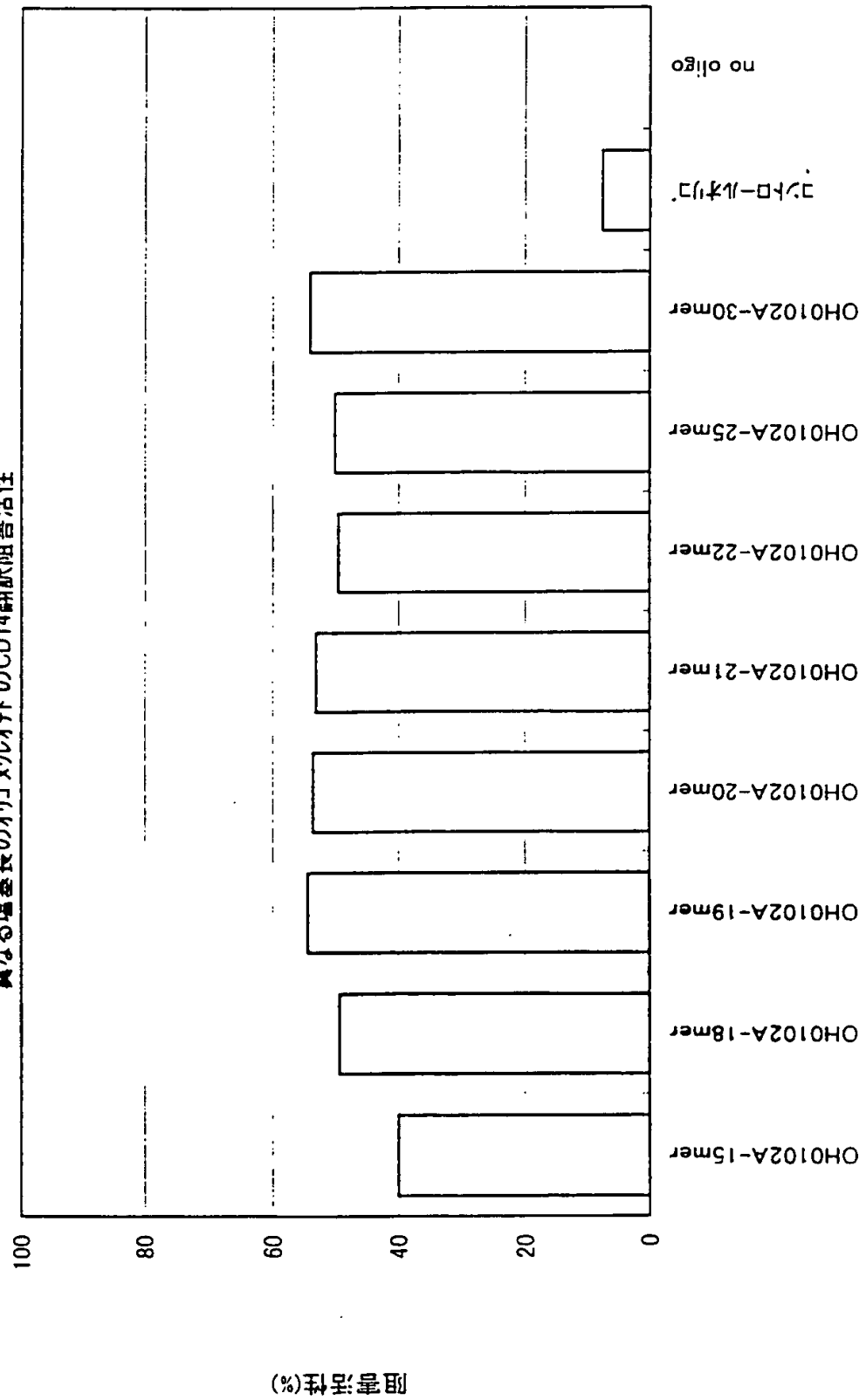


FIG. 2

異なる塩基長のオリゴヌクレオチドのCD14翻訳阻害活性



オリゴヌクレオチド

100

101

102

103

104

105

106

FIG. 3

ヒトCD14アンチセンス化合物の5'非翻訳領域および翻訳開始領域のTNF産生阻害活性

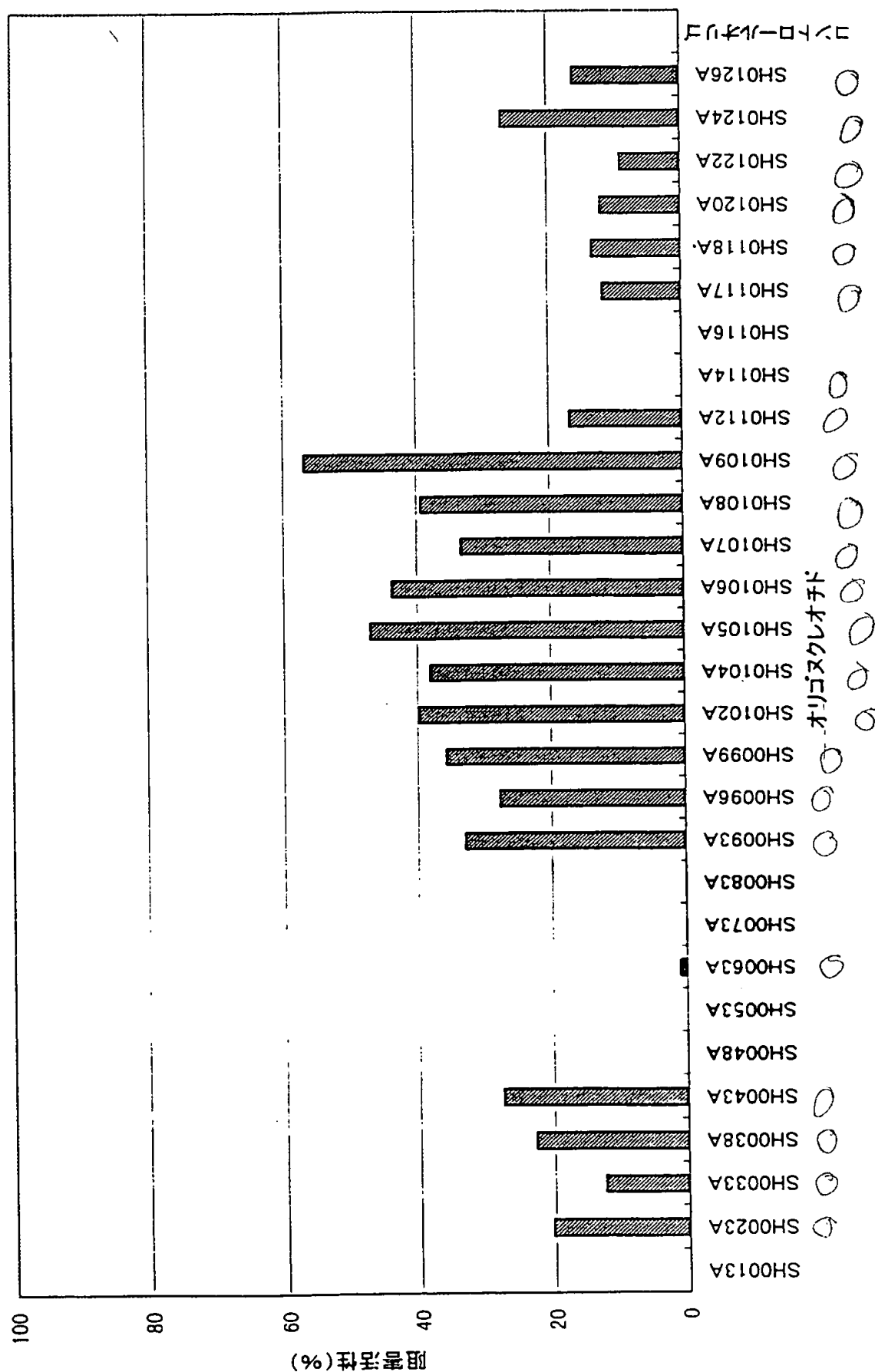


FIG. 4

ヒトCD14アンチセンスの3'非翻訳領域におけるTNF産生阻害活性

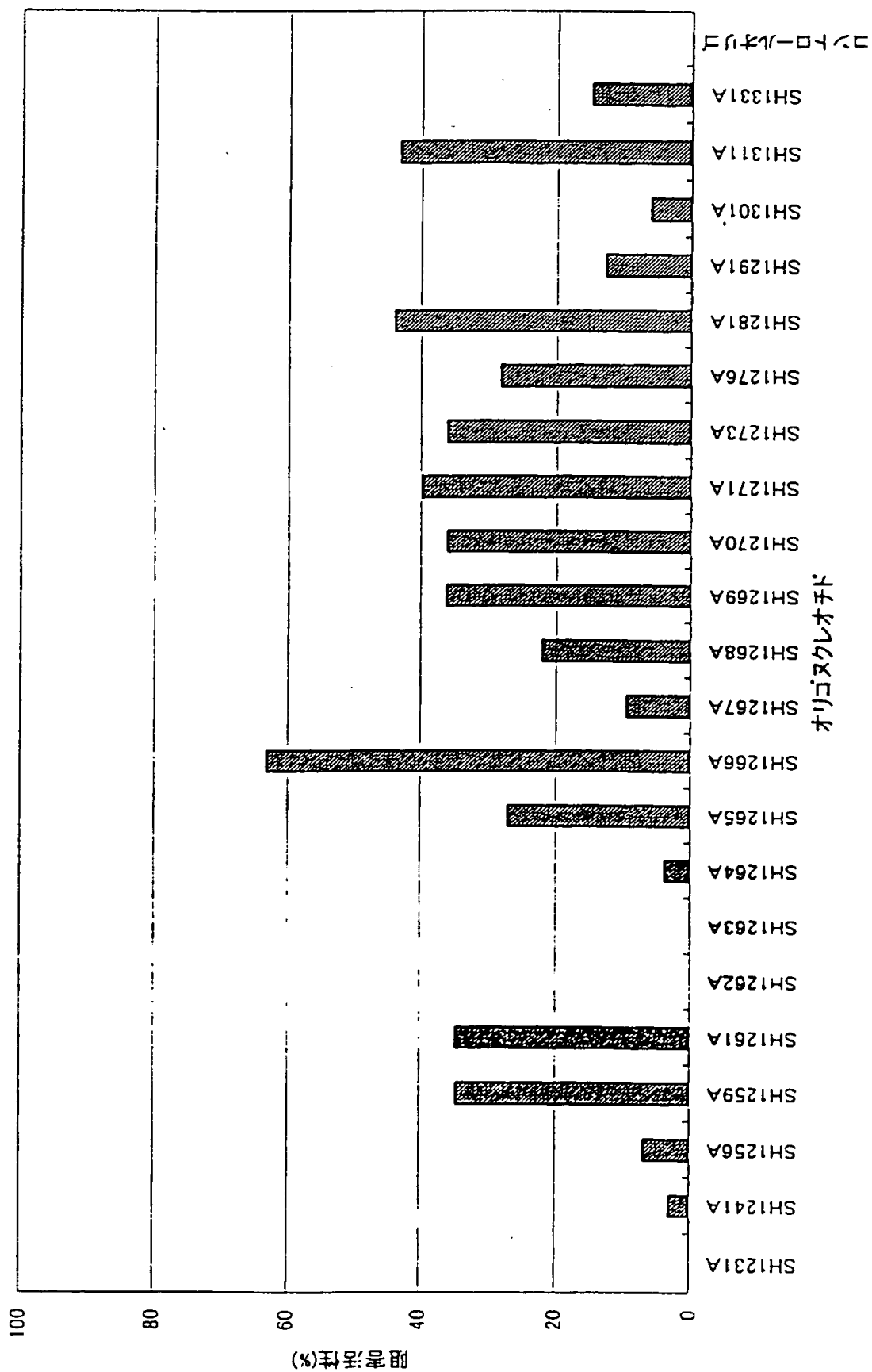
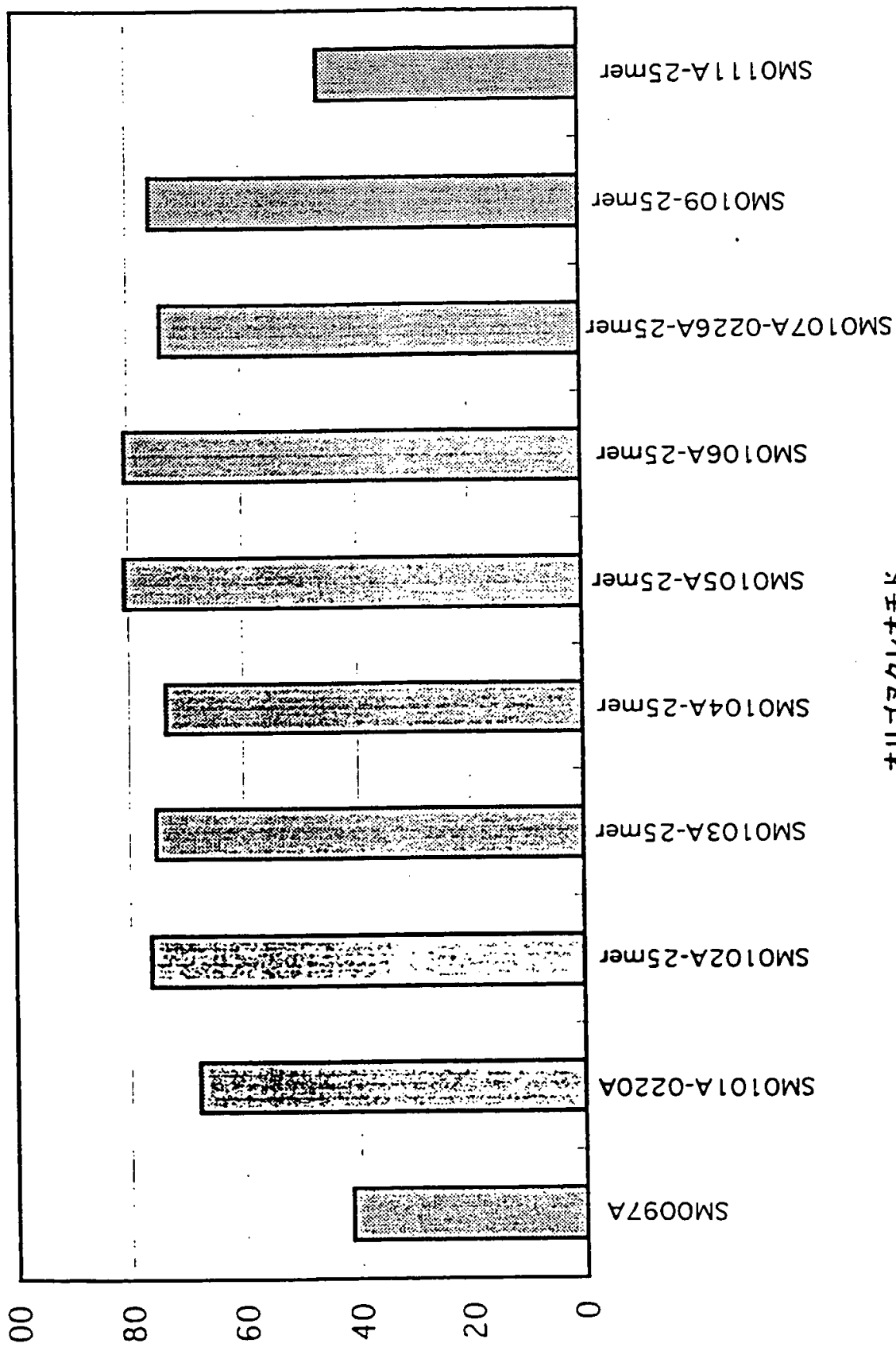


FIG. 5

マウス CD14 アンチセンスの 5' 非翻訳領域及び翻訳領域の TNF 産生阻止活性

阻害活性 (%)



オリゴヌクレオチド

1
2
3

4

5

(

(

6

7

FIG. 6

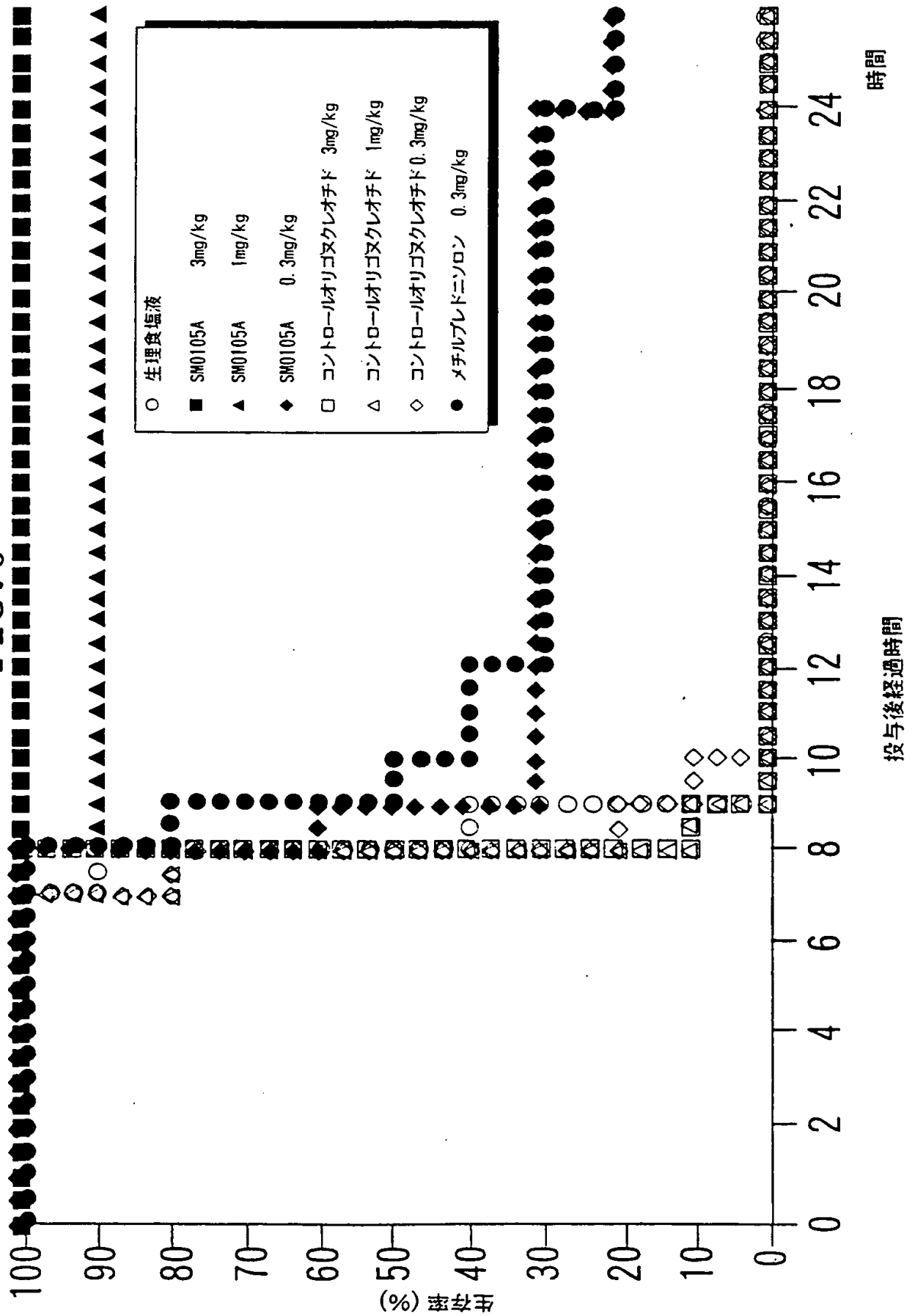


FIG. 7

エンドトキシンショックモデルにおける SM0105A の肝機能に与える影響

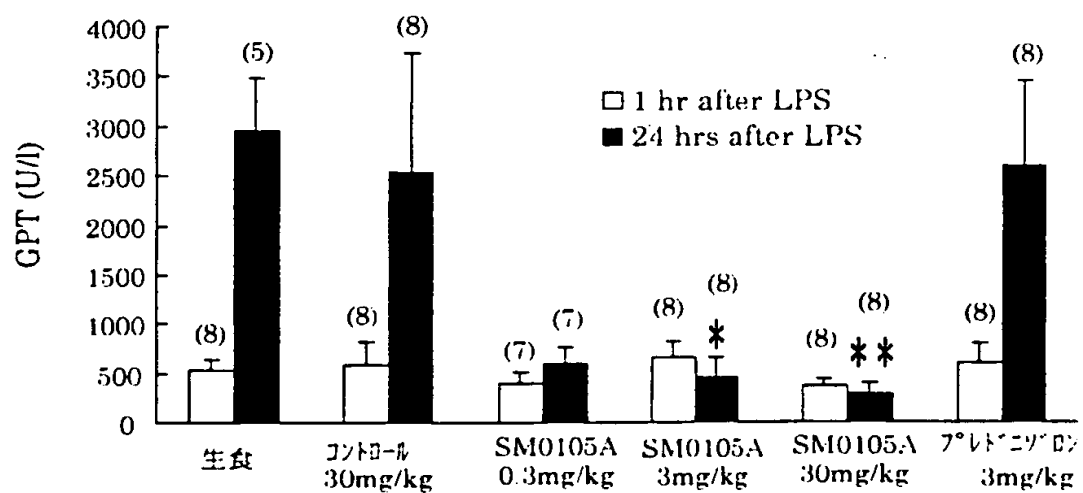


FIG. 8

5'非翻訳領域のヒトCD14シリンダー融合蛋白質抑制活性

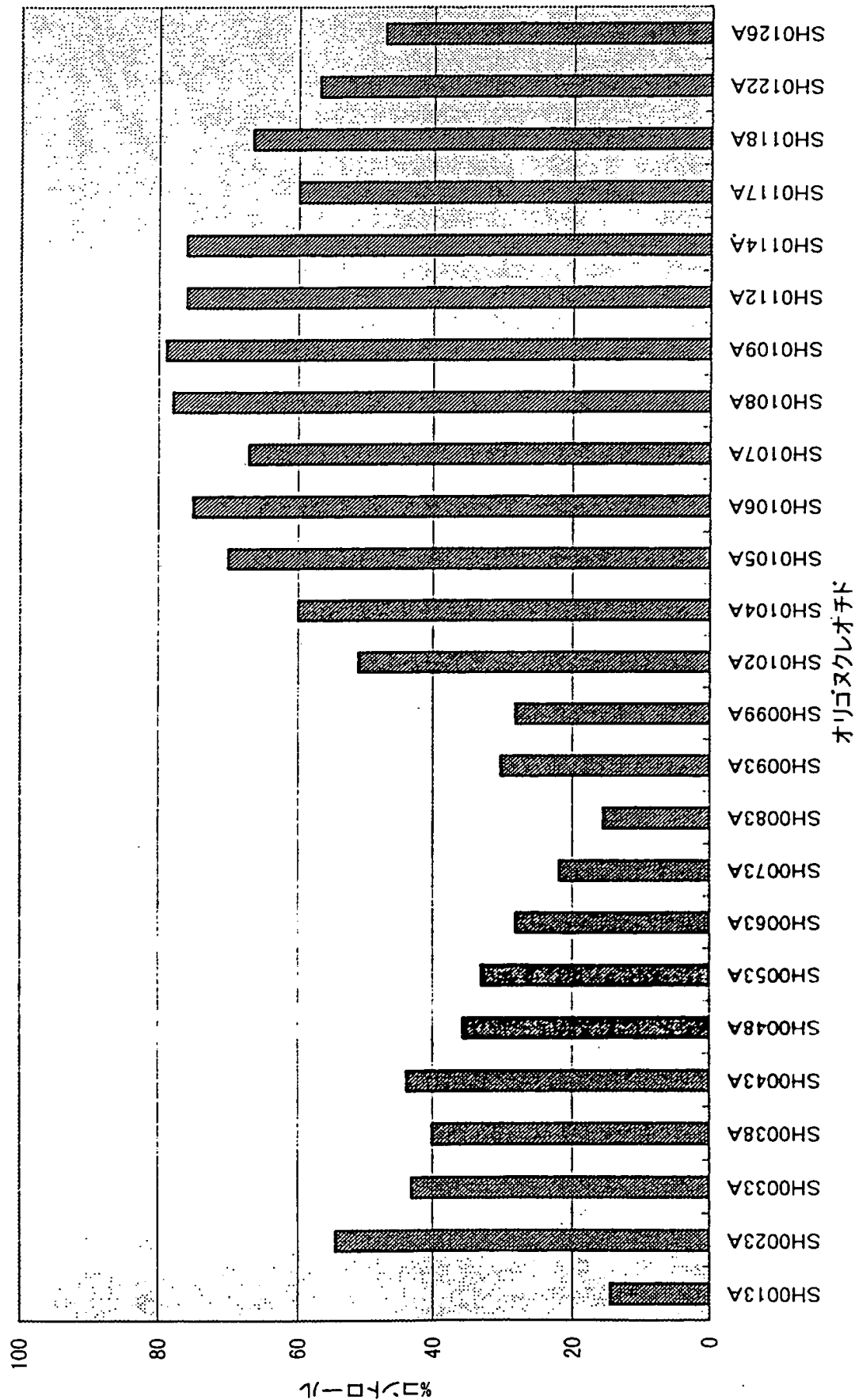


FIG. 9

ヒトCD14アンチセンスの翻訳領域のTNF産生阻害活性

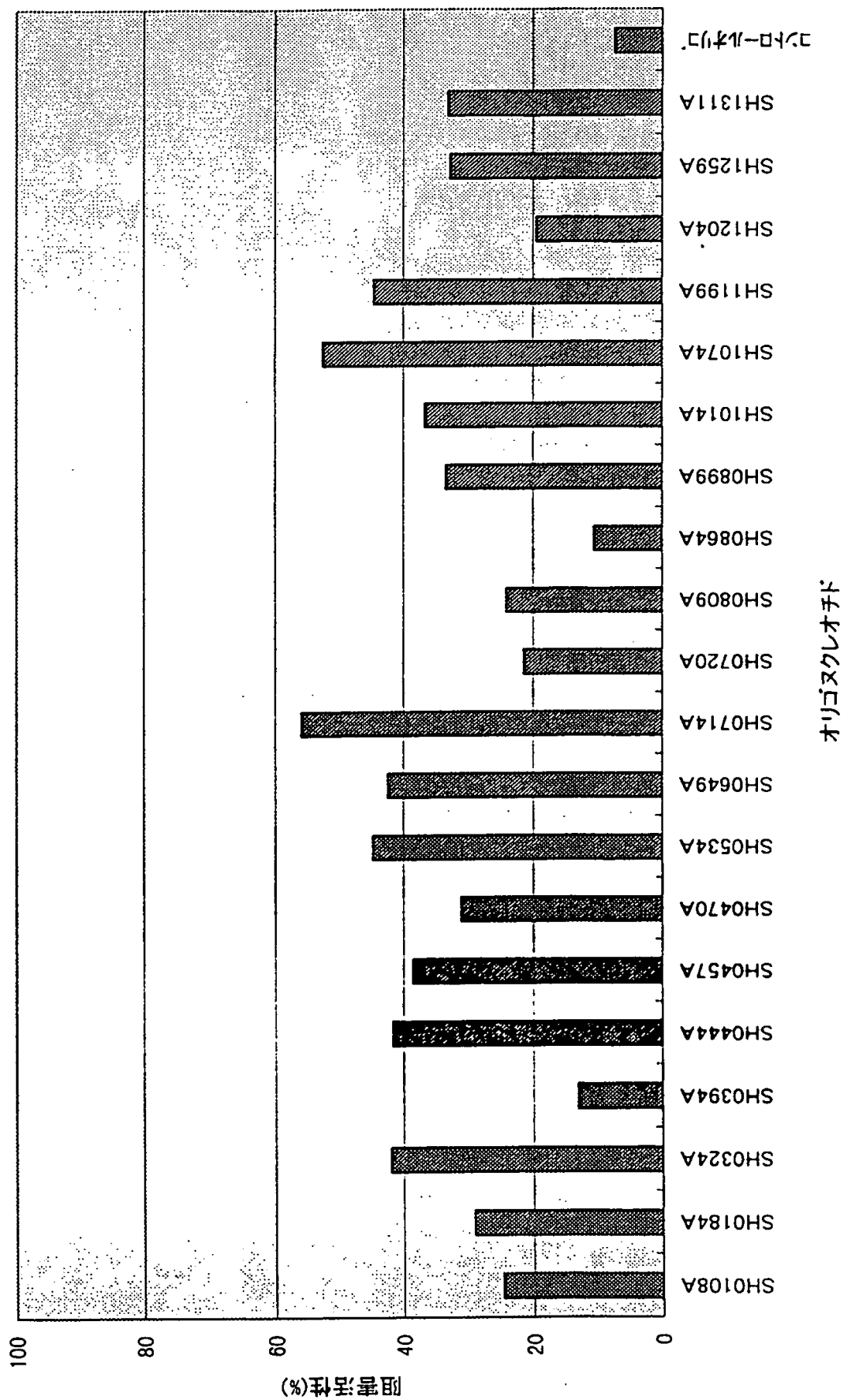
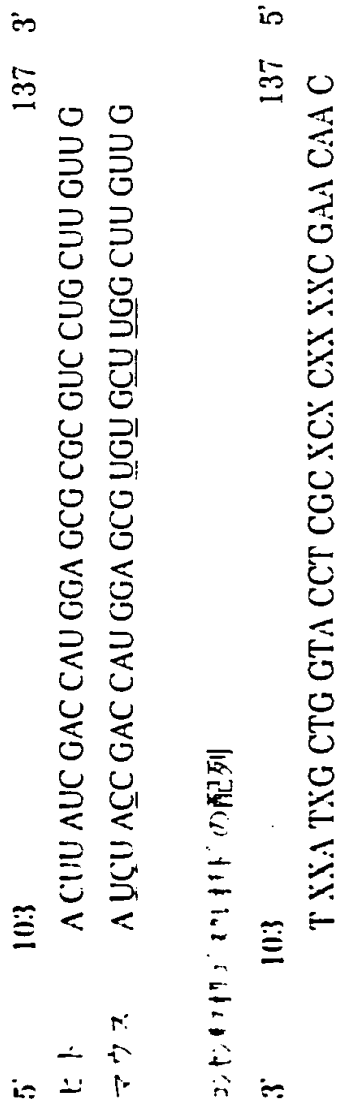


FIG.10



コンセンサスオリゴヌクレオチドのヒトCD14抗原シテラーゼ融合蛋白質発現阻害活性

FIG. 11

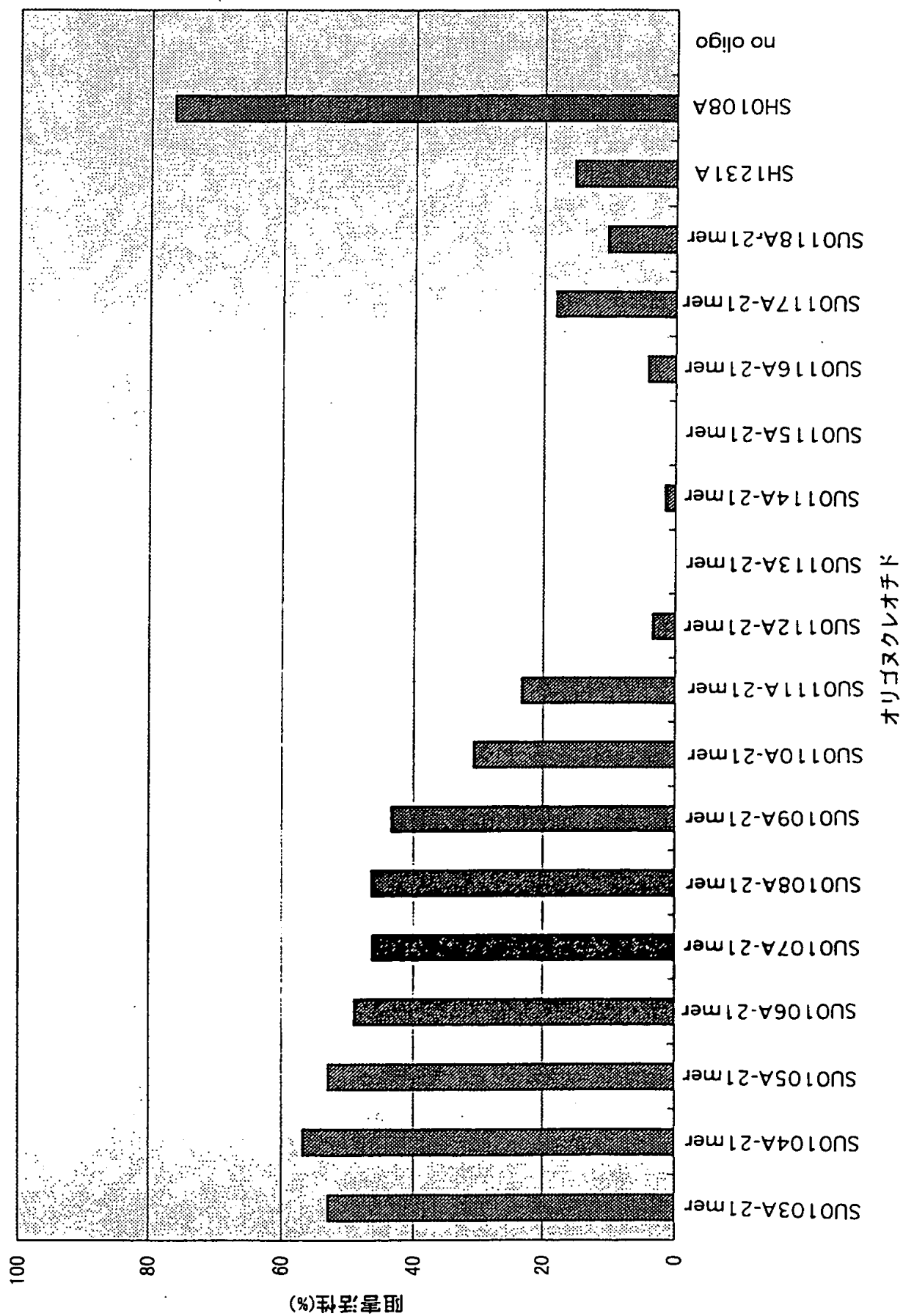
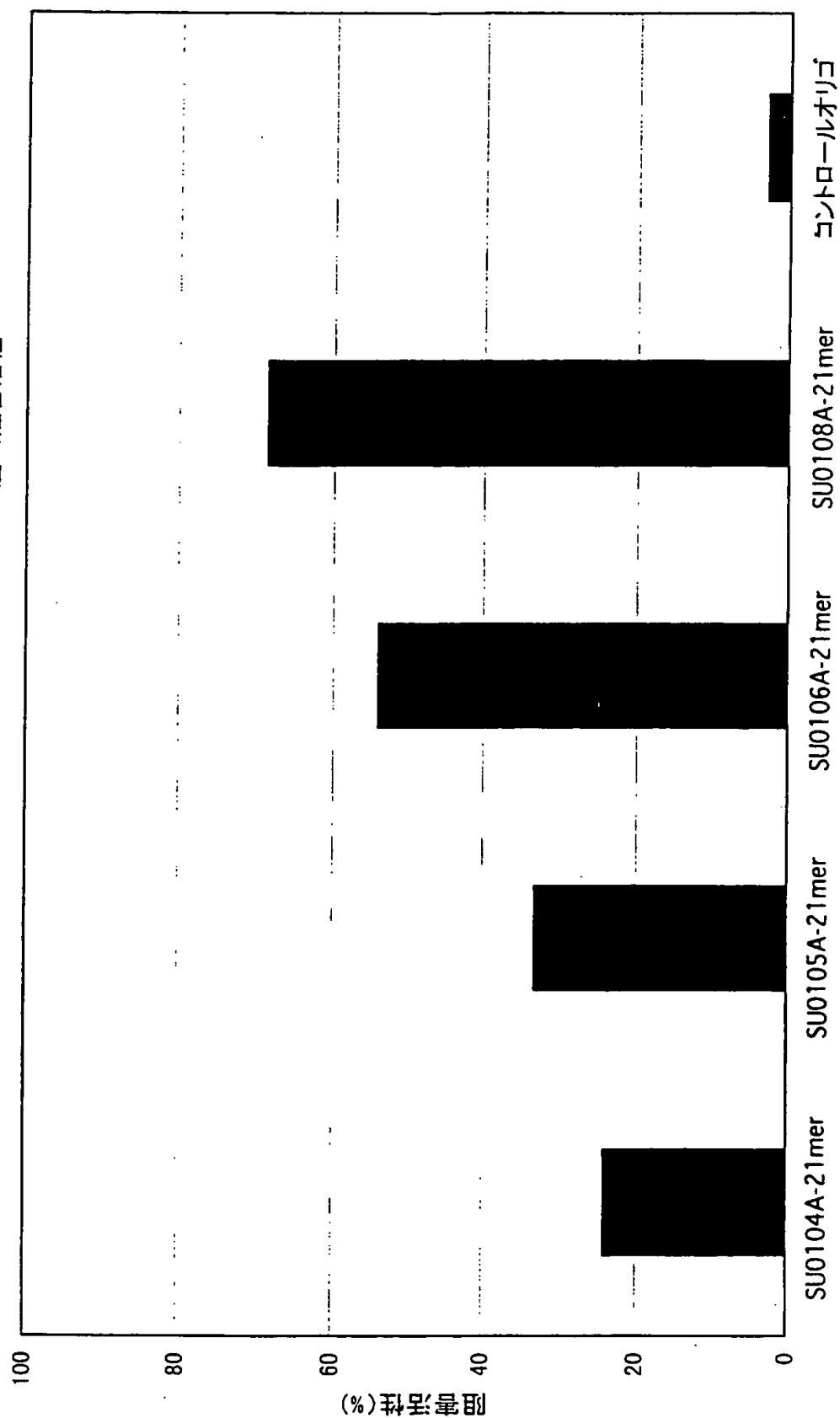


FIG. 12

コンセンサスオリゴヌクレオチドのマウスTNF- α 産生阻害活性

オリゴヌクレオチド

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00953

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ C12N15/12, A61K31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ C12N15/12, A61K31/70

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FERRERO, E. et al., "Nucleotide sequence of the gene encoding the monocyte differentiation antigen, CD14", Nucleic Acids Research (1988) Vol. 16, No. 9 p.4173	1-18
Y		19-21
X	US, 5543303, A (Sanna M. Goyert), August 6, 1996 (06. 08. 96) (Family: none)	1-18
Y		19-21
Y	DELUDE, R.L. et al., "CD14 enhances cellular responses to endotoxin without imparting ligand-specific recognition", Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) Vol. 92, No. 20 p.9288-9292	19-21

☐ Further documents are listed in the continuation of Part C

☐ See patent family annex

* Special categories of cited documents

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
May 21, 1998 (21. 05. 98)

Date of mailing of the international search report
June 2, 1998 (02. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP98/00953

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C12N 15/12, A61K 31/70

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C12N 15/12, A61K 31/70

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	FERRERO, E. et al. "Nucleotide sequence of the gene encoding the monocyte differentiation antigen, CD14", Nucleic Acids Research (1988) 第16巻, 第9号 p. 4173	1-18
Y		19-21
X	US, 5543303, A, (Sanna M. Goyert) 6. 8月, 1996 (06. 08. 96) パテントファミリー無し	1-18
Y		19-21

☒ ①欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を添付。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術背景を示すもの
「B」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 05. 98

国際調査報告の発送日

02. 06. 98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明



4B

9735

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	DELUDE, R. L. et al. "CD14 enhances cellular responses to endotoxin without imparting ligand-specific recognition", Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) 第92巻, 第20号 p. 9288-9292	19-21